

Aus der Klinik für Innere Medizin I mit den Schwerpunkten Gastroenterologie, Hepatologie,
Pneumologie, internistische Intensivmedizin, Endokrinologie, Infektiologie, Rheumatologie,
Ernährungs- und Alterungsmedizin

(Direktor: Prof. Dr. Stefan Schreiber)

im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel

an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**IMMUNGLOBULIN G4 UND ANDERE SEROLOGISCHE PARAMETER BEI
RIESENZELLARTERITIS UND POLYMYALGIA RHEUMATICA**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

Mara Burkel

aus Kiel

Kiel 2016

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Frank Moosig
2. Berichterstatter: Prof. Dr. Marcus Both

Tag der mündlichen Prüfung: 07.06.2017

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 07.06.2017

gez.: Prof. Dr. Johann Roider

(Vorsitzender der Prüfungskommission)

Inhaltsverzeichnis

Glossarium.....	1
1. Einleitung.....	4
2. Methoden.....	11
2.1. Patienten	11
2.1.1. Riesenzellarteriitis- und Takayasu-Arteriitis-Patienten	11
2.1.2. Polymyalgia rheumatica-Patienten	13
2.1.3. Gesunde Kontrollgruppe und Vergleichsseren.....	13
2.2. Laborbefunde und klinische Befunde.....	14
2.3. In-House-Immunglobulin G4-Enzyme Linked Immunosorbent Assay.....	14
2.4. Zytokin-Enzyme Linked Immunosorbent Assays und Messung des Eosinophil Cationic Protein	17
2.5. Lagerung der Proben und Reagenzien	18
2.6. Statistische Auswertung	18
3. Ergebnisse.....	19
3.1. Klinische Charakteristika.....	19
3.1.1. Alter	20
3.1.2. Geschlecht	20
3.1.3. C-reaktives Protein und Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit in der Gruppe der untherapierten Patienten	20
3.1.4. Leukozyten und Hämoglobin in der Gruppe der untherapierten Patienten	21
3.1.5. Ferritin in der Gruppe der untherapierten Patienten	21
3.2. Immunglobulin G4-Serumkonzentrationen	22
3.2.1. Immunglobulin G4 bei der Riesenzellarteriitis	22
3.2.2. Immunglobulin G4 bei der Takayasu-Arteriitis.....	24
3.2.3. Immunglobulin G4 bei der Polymyalgia rheumatica	24
3.2.4. Immunglobulin G4 bei der gesunden Kontrollgruppe.....	25

3.2.5. Zusammenfassende Gegenüberstellung der Immunglobulin G4-Messergebnisse.....	25
3.2.6. Immunglobulin G4-Vergleich: Riesenzellarteriitis und Takayasu-Arteriitis.....	26
3.2.7. Immunglobulin G4-Vergleich: Riesenzellarteriitis und Polymyalgia rheumatica	26
3.2.8. Immunglobulin G4-Vergleich: Polymyalgia rheumatica und Takayasu-Arteriitis.....	28
3.2.9. Immunglobulin G4-Vergleich: Riesenzellarteriitis/Takayasu-Arteriitis/Polymyalgia rheumatica und gesunde Kontrollgruppe.....	28
3.2.10. Immunglobulin G4-Vergleich: Polymyalgia rheumatica-Patienten mit Riesenzellarteriitis und Polymyalgia rheumatica-Patienten ohne Riesenzellarteriitis.....	30
3.3. Ergänzende Erhebungen und Messungen in der Untergruppe der untherapierten Patienten	32
3.3.1. Zahl der eosinophilen Granulozyten (absolut)	32
3.3.1.1. Vergleich der eosinophilen Granulozyten (absolut): Riesenzellarteriitis und Polymyalgia rheumatica.....	32
3.3.1.2. Vergleich der eosinophilen Granulozyten (absolut): Riesenzellarteriitis/Polymyalgia rheumatica und Takayasu-Arteriitis	33
3.3.2. Eosinophil Cationic Protein.....	34
3.3.3. Interleukin-10-Serumkonzentrationen.....	35
3.3.3.1. Interleukin-10-Vergleich: Riesenzellarteriitis und Polymyalgia rheumatica	35
3.3.3.2. Interleukin-10-Vergleich: Riesenzellarteriitis/Polymyalgia rheumatica und Takayasu-Arteriitis	37
3.3.3.3. Interleukin-10-Vergleich: Riesenzellarteriitis/Takayasu-Arteriitis/Polymyalgia rheumatica und gesunde Kontrollgruppe	37
3.3.4. Interleukin-5-Serumkonzentrationen.....	37
3.3.5. Interleukin-4-Serumkonzentrationen.....	37
3.3.5.1. Interleukin-4-Vergleich: Riesenzellarteriitis und Polymyalgia rheumatica	38
3.3.5.2. Interleukin-4-Vergleich: Riesenzellarteriitis/Polymyalgia rheumatica und gesunde Kontrollgruppe	39
3.4. Korrelationen.....	39

4. Diskussion	40
4.1. Immunglobulin G4 zur Differentialdiagnose zwischen der Immunglobulin G4-assoziierten chronischen Periaortitis und der Riesenzellarteriitis	40
4.2. Immunglobulin G4 zur Differentialdiagnose zwischen der Riesenzellarteriitis und der Polymyalgia rheumatica	43
4.3. Pathogenese bei der Riesenzellarteriitis und der Polymyalgia rheumatica	45
4.4. Limitationen der Untersuchungen	51
5. Zusammenfassung.....	53
6. Literaturverzeichnis	55
7. Anhänge.....	70
7.1. Arbeitsanweisungen, Verdünnungen und Enzyme Linked Immunosorbent Assay-Protokoll	70
7.1.1. Herstellung von Proben- und Waschpuffer	70
7.1.2. Herstellung des Konjugats	70
7.1.3. Herstellung der Standardreihe	70
7.1.4. Verdünnung der Proben und Kontrollseren	71
7.1.5. Enzyme Linked Immunosorbent Assay-Protokoll	71
7.2. Verwendete Materialien, Geräte, Reagenzien und Programme.....	72
7.2.1. Geräte	72
7.2.2. Hilfsmittel und Materialien.....	72
7.2.3. Lagerung	73
7.2.4. Programme	74
7.2.5. Reagenzien.....	74
7.2.5.1. Immunglobulin G4-Enzyme Linked Immunosorbent Assay.....	74
7.2.5.2. Eosinophil Cationic Protein-Messung	75
7.2.5.3. Interleukin-10-Enzyme Linked Immunosorbent Assay	75
7.2.5.4. Interleukin-5-Enzyme Linked Immunosorbent Assay	75

7.2.5.5. Interleukin-4-Enzyme Linked Immunosorbent Assay	76
7.3. Korrelationen.....	76
Danksagung	78
Lebenslauf	79

Glossarium

A., Aa.	Arteria, Arteriae
ACR	American College of Rheumatology
AIP	Autoimmunpankreatitis
ANOVA	Analysis of variance
BSA	Bovines Serumalbumin
BSG	Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit
°C	Grad Celsius
CD	Cluster of differentiation
CP	Chronische Periaortitis
CRP	C-reaktives Protein
DMARDs	Disease-modifying antirheumatic drugs
ECP	Eosinophil Cationic Protein, Eosinophiles kationisches Protein
EGPA	Eosinophile Granulomatose mit Polyangiitis, Churg-Strauss-Syndrom
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EOS	Absolute eosinophile Granulozyten
EULAR	European League Against Rheumatism
FDG	¹⁸ F-Fluordesoxyglucose
FERR	Ferritin
H+L	Heavy and light chain
Hb	Hämoglobin
HE	Hämatoxylin-Eosin

IFN γ	Interferon γ
IgG4	Immunglobulin Klasse G, Subklasse 4
IgG4-RD	IgG4-related systemic disease
IL-	Interleukin
Min	Minute/n
MR-Angiographie	Magnetresonanz-Angiographie
mRNA	Messenger-Ribonukleinsäure
MTP	Mikrotiterplatte
NaN ₃	Natriumazid
PBS	Blei(II)-sulfid
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PMR	Polymyalgia rheumatica
PP	Probenpuffer
RIA	Radioimmunoassay
ROC	Receiver Operating Characteristic
Rpm	Revolutions per minute, Umdrehungen pro Minute
RR	Relatives Risiko
RZA	Riesenzellarteriitis
SD	Standard deviation, Standardabweichung
ST	Standard
T-	Thymus-
TAB	Temporal artery biopsy, Temporalarterienbiopsie
TGF β	Transforming Growth Factor β

TH1/2	T-Helferzelle-1/2
TMB	3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin
TNF α	Tumornekrosefaktor α
Treg	Regulatorische T-Zelle
TRIS	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
WBC	White blood cells, Leukozyten

1. Einleitung

Die Riesenzellarteriitis (RZA) ist eine immunvermittelte Vaskulitis der mittelgroßen und großen Arterien, die erstmals 1890 beschrieben wurde (Hutchinson, 1890). Sie stellt mit einer Inzidenz von jährlich 20/100.000 Einwohner die häufigste Form der systemischen Vaskulitis bei Menschen über dem 50. Lebensjahr dar (Kermani et al., 2010). Sind Menschen vor dem 40. Lebensjahr von einer granulomatösen Panarteriitis der Aorta und ihrer Äste betroffen, dann liegt die sehr selten auftretende, seit 1908 bekannte, Takayasu-Arteriitis vor (Takayasu, 1908). Diese ähnelt histologisch der RZA, betrifft zumeist Frauen und äußert sich häufig in Durchblutungsstörungen der Extremitäten (Mason, 2010), weshalb sie auch als „pulseless disease“ bezeichnet wird (Shimizu and Sano, 1951). Die Bezeichnung RZA beruht auf dem Nachweis charakteristischer mehrkerniger Makrophagen, auch Riesenzellen genannt, bei der histologischen Untersuchung der Gefäßwände (Gilmour, 1941). Später erkannte Bayard T. Horton die Arteria temporalis als typische Prädilektionsstelle, weshalb die Erkrankung auch den Namen Arteriitis temporalis „Horton“ trägt (Horton et al., 1932). Zusätzlich zu allgemeinen Entzündungszeichen wie Fieber, Müdigkeit und Gewichtsverlust stellen sich die Patienten mit Kopfschmerzen, palpablen Temporalarterien, Kauclaudicatio, Dysästhesien im Bereich des Skalps und in 20 % mit einem Visusverlust vor (Huston et al., 1978; Calamia and Hunder, 1981; Aiello et al., 1993; Salvarani et al., 2002; Weyand and Goronzy, 2014). Neben der Temporalarterie und der Okzipitalarterie als Äste der Arteria (A.) carotis externa sind häufig die Arteriae (Aa.) ophthalmicae und vertebrales betroffen (Horton et al., 1932; Borchers and Gershwin, 2012). In 25 % der Fälle umfasst ein extrakranialer Befall die Aa. subclaviae, axillae und die Aorta thoracica im Sinne einer „large vessel arteritis“ (Klein et al., 1975; Brack et al., 1999; Borchers and Gershwin, 2012; Kermani et al., 2013). Eine Vaskulitis der unteren Extremität (z.B. A. iliaca interna, A. femoralis) ist wesentlich seltener (Kermani et al., 2009; Assie et al., 2011). Als Folge des inflammatorischen Prozesses können Ischämien, hervorgerufen durch Stenosen (Jennings, 1938; Hamrin et al., 1964; Aiello et al., 1993) sowie Dissektionen und Aneurysmata (Nuenninghoff et al., 2003a, 2003b; García-Martínez et al., 2008), den Krankheitsverlauf verkomplizieren. Bei der Diagnosestellung ist die Biopsie der Arteria temporalis (TAB, temporal artery biopsy) mit einer Erfolgsrate von 85-95 % der Goldstandard (Kermani et al., 2013). In etwa 10-20 % der Fälle muss jedoch mit falsch-negativen Biopsieergebnissen gerechnet werden (Salvarani and Hunder, 2001), vor allem wenn die Länge der entnommenen Arterie weniger als 1,5-2 cm beträgt (Klein et al., 1976). Zudem nimmt die Erfolgswahrscheinlichkeit der Biopsie mit einer eingeleiteten Therapie

stark ab, was in einer Studie an 78 RZA-Patienten gezeigt werden konnte. Während bei Patienten mit neu diagnostizierter RZA die TAB-Ergebnisse in 78 % der Fälle positiv waren, waren es nach zwei Wochen Therapie nur noch 65 % und nach vier Wochen nur noch 40 % (Narváez et al., 2007). Gerade vor dem Hintergrund einer möglichen isolierten Beteiligung extrakranialer Arterien und der Möglichkeit falsch-negativer Ergebnisse bei der Biopsie (Klein et al., 1976; Brack et al., 1999; Breuer et al., 2009) geschieht die Beurteilung jedoch zusätzlich auf der Basis der klinischen Symptomatik, der Laboruntersuchungen und der bildgebenden Verfahren (Weyand and Goronzy, 2014). Die RZA kann nach den Kriterien des American College of Rheumatology (ACR) klassifiziert werden (Hunder et al., 1990).

Die Polymyalgia rheumatica (PMR) ist eine weitere entzündliche Erkrankung, die 1888 erstmals beschrieben und 1957 benannt wurde (Barber, 1957). Sie verursacht Schmerzen und Steifigkeit in ausgewählten Muskelgruppen, bevorzugt in Nacken, Schultern, Oberarmen und im Beckengürtel, einhergehend mit einer systemischen Entzündungsreaktion (Chuang et al., 1982; Healey, 1984; Salvarani et al., 1987; Kermani and Warrington, 2013). Die Symptome äußern sich besonders in den Morgenstunden. Da es, wie bei der RZA, keine spezifischen Tests für die PMR gibt, erfolgt die Diagnose auf der Grundlage der Anamnese, der körperlichen Untersuchung und der Laboruntersuchungen (Weyand and Goronzy, 2014). Charakteristisch und bei der Diagnosestellung hilfreich ist ein promptes Ansprechen auf Glucocorticoide (Matteson et al., 2012; Salvarani et al., 2012). Aufgrund von Studien, die eine Assoziation der PMR mit Bursitiden und Tendosynovitiden gezeigt haben, gewinnt die Bildgebung der Bursae und der subartikulären Strukturen mittels Ultraschall und Magnetresonanztomographie immer mehr an Bedeutung (Falsetti et al., 2011; Ruta et al., 2012). Das ACR und die European League Against Rheumatism (EULAR) reagierten auf diese neuen Erkenntnisse mit der Herausgabe neuer Klassifikationskriterien, bei denen die Ergebnisse der Sonographie einbezogen werden können (Dasgupta et al., 2012).

Obwohl eine vollständige Aufklärung über die Verknüpfung der PMR und RZA noch aussteht, scheinen beide Erkrankungen eng miteinander verwandt zu sein und zwei verschiedene Ausprägungen des gleichen Krankheitsspektrums darzustellen (Cantini et al., 2004; Salvarani et al., 2012). Beide Erkrankungen, sowohl die RZA als auch die PMR, betreffen ältere Menschen mit einem Inzidenzpeak im Alter zwischen 70 und 80 Jahren (González-Gay and García-Porrúa, 2001); ein Alter über 50 Jahre gilt als ein Klassifikationskriterium (Bird et al., 1979; Hunder et al., 1990; Weyand et al., 2012; Kermani and Warrington, 2014). Frauen erkranken zwei- bis dreimal

häufiger als Männer an der RZA und der PMR (Gonzalez-Gay et al., 2009). Ungefähr 50 % der RZA-Patienten zeigen vor, während oder nach der Diagnose der Vaskulitis Symptome einer PMR, während ein Fünftel der PMR-Patienten Charakteristika der RZA zeigt (Franzén et al., 1992; Salvarani et al., 1995a, 1995b; González-Gay et al., 1997; Salvarani et al., 2008). Klinische Studien offenbarten, dass ungefähr 5-20 % der Patienten mit klinisch reiner PMR in der Biopsie der Temporalarterie RZA-typische Läsionen aufweisen, obwohl eine klinische Symptomatik im Sinne einer Vaskulitis fehlte (Chuang et al., 1982; Salvarani et al., 1995b; Cantini et al., 2004; Gonzalez-Gay et al., 2004). Bei einem Drittel der Patienten mit klinisch reiner PMR war zudem in der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) eine subklinische „large-vessel-arteritis“ auffällig (Moosig et al., 2004; Blockmans et al., 2007).

Eine Behandlung erfolgt in beiden Fällen mit Glucocorticoiden, wobei zur Behandlung der RZA eine höhere Dosis benötigt wird als für die PMR (Pipitone and Salvarani, 2008; Mukhtyar et al., 2009; Dasgupta et al., 2010a, 2010b). Als weiteres Indiz für die enge Verwandtschaft beider Erkrankungen spricht die Beobachtung, dass die Reduzierung der Glucocorticoid-Therapie bei RZA-Patienten häufig mit dem Auftreten polymyalgischer Beschwerden einhergeht (Weyand and Goronzy, 2014). Obwohl die Entzündungsmarker, gemessen am C-reaktiven-Protein (CRP) und der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG), im Serum der Patienten um das Doppelte bis Zehnfache erhöht sind, existieren bislang keine validierten, spezifischen Serummarker für die RZA und die PMR (Hayreh et al., 1997; Evans and Hunder, 2000; Kermani et al., 2012). Trotz seiner immunmodulatorischen Funktion konnte sich auch die Messung der Interleukin-6 (IL-6)-Serumkonzentration nicht durchsetzen (Dasgupta and Panayi, 1990). Bei einer Studie an RZA- und PMR-Patienten entdeckte man in 92 % der Fälle Autoantikörper gegen Ferritin. Damit scheint dieser Antikörper ein vielversprechendes diagnostisches Instrument zu sein (Baerlecken et al., 2012). Eine nachfolgende Untersuchung hat jedoch angedeutet, dass bis zur routinemäßigen Etablierung noch eine weitere Optimierung des Testsystems notwendig ist (Große et al., 2013). Zudem eignet sich keiner der bisher getesteten Biomarker zur Unterscheidung beider Syndrome.

Da derzeit somit eine isolierte Aortitis im Rahmen einer RZA nur bildmorphologisch gesichert werden kann, ergeben sich hierbei differentialdiagnostische Schwierigkeiten bei der Abgrenzung gegenüber anderen inflammatorischen Erkrankungen der Aorta wie zum Beispiel der chronischen Periaortitis (CP) (Salvarani et al., 2005; Martínez-Valle et al., 2010; Tölle et al., 2012; Protopsaltis et al., 2014). Die CP ist eine inflammatorische Erkrankung der Aorta mit

Aneurysmabildung und periaortaler Fibrosierung, die sich klinisch durch abdominale- oder Flankenschmerzen sowie eine B-Symptomatik präsentiert (Parums, 1990; Vaglio et al., 2003; Palmisano and Vaglio, 2009; Vaglio et al., 2011). Betroffen ist in den meisten Fällen die Aorta abdominalis, während für die RZA der Befall des Aortenbogens mit seinen Abgängen und der Äste der A. carotis externa typisch ist (Salvarani et al., 2005). Durch Übergreifen auf die Aorta thoracica kann die CP jedoch morphologisch das Bild einer Großgefäßvaskulitis imitieren (Mitchinson, 1970, 1972; Palmisano and Vaglio, 2009; Martínez-Valle et al., 2010), genauso wie die Vaskulitis bei RZA auch die Mesenterialarterien einbeziehen kann (Scola et al., 2008). Anders als bei der CP, bei der die dorsalen Anteile der Aorta von der Weichteilvermehrung eher ausgespart sind, ist bei den Großgefäßvaskulitiden die ganze Zirkumferenz wandverdickt (Sultan et al., 1999). In der klinischen Praxis zeigen sich jedoch nicht selten Grenzbefunde zwischen RZA und CP. Magnetresonanz-Angiographie (MR-Angiographie)-Bilder verdeutlichen dies. In Abbildung 1 sieht man eine CP mit breiter, unregelmäßiger periaortaler Weichteilvermehrung der abdominellen Aorta, während man in Abbildung 2 eine Aortitis der thorakalen Aorta mit Wandverdickung und Kontrastmittel-Aufnahme bei RZA sieht. So eindeutig wie auf diesen beiden Bildern ist die Diagnose seitens der Bildgebung jedoch leider nicht immer zu stellen, denn es treten auch schwieriger einzuordnende Befunde auf, wie Abbildung 3 zeigt. Hier sieht man keine klassische Aortitis, sondern zusätzlich periaortale Läsionen, wobei auch nicht das klassische Vollbild mit massiver retroperitonealer Fibrose zu finden ist.

Abbildung 1: MR-Angiographie mit CP

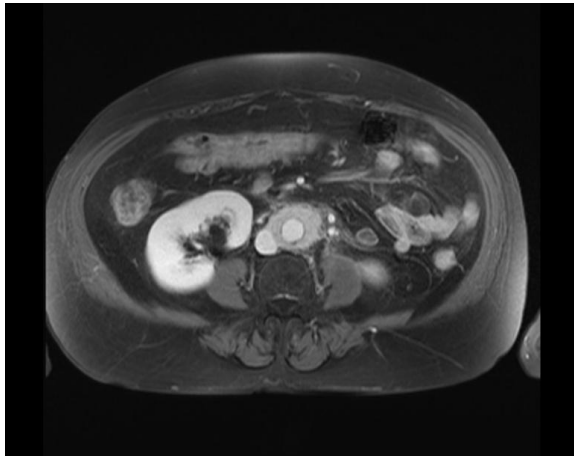


Abbildung 1: CP mit breiter unregelmäßiger periaortaler Weichteilvermehrung der abdominalen Aorta

Abbildung 2: MR-Angiographie mit Aortitis bei RZA

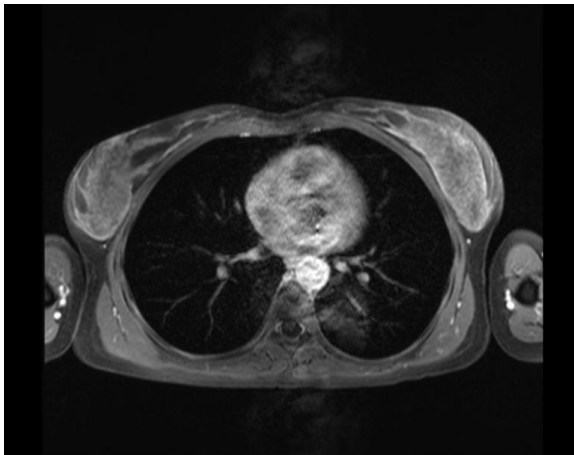


Abbildung 2: Aortitis der thorakalen Aorta mit Wandverdickung und Kontrastmittel-Aufnahme bei RZA

Abbildung 3: MR-Angiographie mit diagnostischem Grenzbefund (CP oder RZA?)

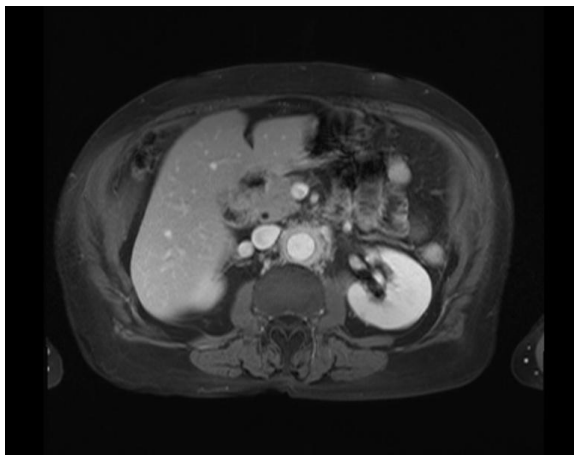


Abbildung 3: Untypische Aortitis der abdominalen Aorta mit periaortalen Läsionen

Im seltenen Fall einer Probenentnahme im Rahmen eines aortenchirurgischen Eingriffes ist eine exakte Differenzierung beider Erkrankungen möglich. Kennzeichnend in der Histologie bei der CP ist eine lymphoplasmazelluläre Infiltration mit Eosinophilie (Mitchinson, 1970; Vaglio et al., 2006), in Abgrenzung zur RZA und Takayasu-Arteriitis, die sich vor allem durch mehrkernige Riesenzellen und eine granulomatöse Entzündungsreaktion kennzeichnen (Vaglio and Buzio, 2005; Cavazza et al., 2014).

Eine Möglichkeit zur serologischen Differenzierung beider Erkrankungen könnte durch die oben erwähnten Ferritin-Antikörper, aber auch durch Immunglobulin Klasse G, Subklasse 4 (IgG4) möglich sein, dessen großer Vorteil darin besteht, dass etablierte Tests zur Verfügung stehen. Die CP wird neben einer Reihe anderer Krankheiten zum Spektrum der IgG4-assoziierten Erkrankungen (IgG4-related systemic disease, IgG4-RD) gezählt seit Hamano et al. 2002 (Hamano et al., 2002) erstmals bei Patienten mit CP erhöhte IgG4-Serumkonzentrationen feststellten (Kasashima et al., 2008). Heute weiß man, dass etwa 50 % der CP-Fälle IgG4-assoziiert sind, was auf zwei unterschiedliche Pathogenesen der Krankheit hindeutet (Zen et al., 2009; Stone, 2011; Khosroshahi et al., 2013).

Die IgG4-RD stellt ein neues fibroinflammatorisches Krankheitssyndrom dar (Stone et al., 2012b; Brito-Zerón et al., 2014; Mahajan et al., 2014). Dieses ist charakterisiert durch eine massive Infiltration IgG4-positiver Plasmazellen (erhöhte $\text{IgG4}^+/\text{IgG}^+$ -Ratio) und Cluster of differentiation (CD) 4^+ -Thymus (T)-Lymphozyten, begleitet von einer Eosinophilie (Zen and Nakanuma, 2010). Häufig hiermit einhergehen ein tumorähnliches Anschwellen der betroffenen Organe (u.a. Pankreas, Gallenwege, Speicheldrüsen, Schilddrüse, Lunge, Nieren) (Stone et al., 2012a), Fibrosen und eine nur histologisch nachweisbare obliterative Phlebitis (Gefäßobliterationen, Thrombosen) (Cheuk and Chan, 2010; Zen and Nakanuma, 2010). Eine erhöhte IgG4-Serumkonzentration ist bei etwa 70 % der Betroffenen im Serum zu finden, was die Diagnosestellung erleichtert kann (Ebbo et al., 2012). Das IgG4 stellt jedoch keinen sensitiven diagnostischen Marker dar (Strehl et al., 2011; Yamamoto et al., 2012), denn bei den übrigen 30 % liegen trotz fehlender IgG4-Erhöhung die typischen histopathologischen Veränderungen (lymphoplasmazelluläre Infiltrate, Fibrose vom „Storiform-Typ“, obliterative Phlebitis) vor (Deheragoda et al., 2007). Allerdings sollte man erhöhte IgG4-Werte aufgrund eingeschränkter Spezifität auch nicht überinterpretieren, da Studien gezeigt haben, dass erhöhte IgG4-Serumkonzentrationen bei diversen nicht-spezifischen chronisch-inflammatorischen Erkrankungen vorkommen und eine Bewertung vor dem klinischen Kontext deshalb von größter Bedeutung ist

(Strehl et al., 2011; Ebbo et al., 2012). Neben der Messung der IgG4-Serumkonzentration und Bestimmung der IgG4⁺/IgG⁺-Ratio sollten zusätzliche Hinweise auf entsprechende Organmanifestationen durch ausführliche Anamnesen, körperliche Untersuchungen und eine gezielte Bildgebung identifiziert werden (Deshpande et al., 2012). Hergeleitet wurde das Konzept der IgG4-RD auf der Grundlage histologischer und immunhistologischer Untersuchungen verschiedener Organe von Patienten mit Autoimmunpankreatitis (AIP). Bei diesen Patienten stellte man zunächst in 95 % der Fälle IgG4-Serumkonzentrationen oberhalb des Cut-off-Wertes fest (Hamano et al., 2001). In Folgestudien waren darüber hinaus multiple Läsionen außerhalb des Pankreas auffällig, denen eine lymphoplasmazelluläre Infiltration mit IgG4-positiven Plasmazellen und eine Fibrose gemeinsam war (T. Kamisawa et al., 2003). Diese Erkenntnisse führten zu der Annahme, dass die AIP Teil einer Gruppe systemischer Erkrankungen ist, die man seither als IgG4-RD bezeichnet (Terumi Kamisawa et al., 2003).

Aufgrund der teilweise ähnlichen Befallsgebiete an und um die Aorta (bei jedoch komplett unterschiedlicher Histologie) sollte in dieser Arbeit evaluiert werden, ob das Serum-IgG4, als etablierter Marker bei der CP, eine klinisch relevante Aussagekraft zur Abgrenzung gegenüber der RZA hat. Da darüber hinaus ein spezifischer Biomarker zur Diagnose einer RZA fehlt, sollte untersucht werden, ob das IgG4 hierfür, insbesondere in der Abgrenzung zur reinen PMR, geeignet ist. Um genauere Aussagen zur Pathogenese machen zu können, wurden aus den elektronischen Krankenakten der untersuchten Patienten serologische Parameter (CRP, BSG, Leukozyten, Hämoglobin, Ferritin, eosinophile Granulozyten) ermittelt und mit IgG4 in Verbindung stehende Mediatoren (Eosinophil Cationic Protein-ECP, IL-4, IL-5, IL-10) bestimmt.

2. Methoden

2.1. Patienten

In die Studie wurden Patienten mit RZA, Takayasu-Arteriitis und PMR aus der Klinik für Rheumatologie und Immunologie des Klinikum Bad Bramstedts eingeschlossen. Bei den Experimenten wurde ausschließlich mit Serumproben gearbeitet, die in der Biobank des Klinikum Bad Bramstedts gelagert sind. Diese wurden von 2005-2013 im Rahmen der Routinediagnostik entnommen. Geeignete Patienten wurden durch eine computergestützte Suche (Orbis 21, AGFA Health Care, Bonn, Deutschland; Acel, Borland International, Inc., Bad Bramstedt, Deutschland; Se Pavas, Synos, Document & Workflow Management GmbH, Hamburg, Deutschland) identifiziert. Die Auswertung der Proben erfolgte unter Kenntnis der Gruppenzuordnung in anonymisierter Form. Ein Antrag an die Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät Lübeck ist erfolgt und wurde genehmigt (Aktenzeichen 13-228A).

2.1.1. Riesenzellarteriitis- und Takayasu-Arteriitis-Patienten

Voraussetzung für die Aufnahme in die Studie war die Diagnose einer RZA oder Takayasu-Arteriitis. Die Diagnose beruhte auf dem Vorliegen eines initialen Krankheitsverdachts basierend auf den ACR-Kriterien (Arend et al., 1990; Hunder et al., 1990). Darüber hinaus war eine histologische Sicherung oder eine Bildgebung mit dem sicheren Nachweis einer Großgefäßvaskulitis ein notwendiges Einschlusskriterium, was dem Vorgehen in derzeit laufenden klinischen Studien entspricht (Unizony et al., 2013).

Die nach diesen Kriterien ausgewählten RZA-Patienten wurden entsprechend ihrer Gefäßmanifestation in drei Gruppen (Stenose, Aneurysma, reguläre Gefäßmorphologie) eingeteilt, um herauszufinden, ob sich der unterschiedliche Gefäßbefall auch in der Messung der serologischen IgG4-Konzentration widerspiegelt. Mit dem Ziel einer guten Vergleichbarkeit fand anhand des Geschlechts, des Alters, der bisherigen Therapie, der Diagnosesicherung mittels Histologie oder Bildgebung und der Entzündungsparameter im Blut (CRP, BSG nach Westergreen) ein Matching statt, das jedem Patienten mit regulärer Gefäßmorphologie jeweils einen Aneurysma- und einen Stenose-Patienten zuordnete.

Tabelle 1 zeigt eine Zusammenfassung der für die RZA- und Takayasu-Arteriitis-Patienten herangezogenen Ein- und Ausschlusskriterien.

Tabelle 1: Ein- und Ausschlusskriterien für die RZA- und Takayasu-Arteriitis-Patienten

Einschlusskriterien		Ausschlusskriterien
ACR-Kriterien für die RZA (Hunder et al., 1990): <div><div>1. Alter bei Erkrankungsbeginn mindestens 50 Jahre</div><div>2. Neuauftreten lokalisierter Kopfschmerzen</div><div>3. Lokaler Druckschmerz oder abgeschwächte Pulsation einer Temporalarterie (ohne offensichtliche arteriosklerotische Ursache)</div><div>4. BSG-Beschleunigung von über 50 mm/Stunde</div><div>5. Biopischer Nachweis (Vaskulitis durch mononukleäre Zellinfiltration oder granulomatöse Gefäßentzündung, meist mit Nachweis von Riesenzellen)</div></div> (Sensitivität: 93,5 %; Spezifität: 91,2 % beim Vorliegen von mindestens drei Kriterien)	ACR-Kriterien für die Takayasu-Arteriitis (Arend et al., 1990): <div><div>1. Alter bei Krankheitsbeginn unter 40 Jahre</div><div>2. Durchblutungsstörungen der Extremitäten (bewegungsabhängige Muskelbeschwerden mindestens einer Extremität, insbesondere der Arme)</div><div>3. Abgeschwächte Pulsationen der A. radialis und/oder A. ulnaris</div><div>4. Systolische Blutdruckdifferenz von mehr als 10 mmHg zwischen beiden Armen</div><div>5. Auskultierbare Gefäßgeräusche über der A. subclavia (ein- oder beidseits) oder über der abdominalen Aorta</div><div>6. Arteriografischer Nachweis typischer Gefäßveränderungen der Aorta, der aortalen Äste oder der großen proximalen Extremitätenarterien (meist fokal-segmentale, stenosierende oder okkludierende Veränderungen ohne Hinweise auf Arteriosklerose, fibromuskuläre Dysplasie o.ä.)</div></div> (Sensitivität: 90,5 %; Spezifität: 97,8 % beim Vorliegen von mindestens drei Kriterien)	Andere rheumatologische Erkrankungen Andere Erkrankungen als die RZA/ Takayasu-Arteriitis als Ursache für Gefäßkomplikationen
Bei Fehlen eines biopischen Nachweises: Vorliegen einer Vaskulitis in PET oder MR-Angiographie		

2.1.2. Polymyalgia rheumatica-Patienten

Als Grundlage für die Selektion der PMR-Patienten wurden die Bird-Kriterien (Bird et al., 1979) herangezogen. Eingeschlossen wurden Patienten, die mindestens drei der sieben Kriterien aufwiesen und die bisher keine Therapie erhalten hatten. Die neuen, im Vorangegangenen bereits erwähnten, Klassifikationskriterien waren zum Zeitpunkt der Studie noch nicht in Gebrauch.

Tabelle 2 zeigt eine Zusammenfassung der für die PMR-Patienten herangezogenen Ein- und Ausschlusskriterien.

Tabelle 2: Ein- und Ausschlusskriterien für die PMR-Patienten

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
<p>Erfüllung von mindestens drei der Bird-Kriterien (Bird et al., 1979):</p> <ol style="list-style-type: none">1. Beidseitige Schulterschmerzen und/oder beidseitige Steifigkeit (alternativ auch Schmerzen in folgenden Regionen: Nacken, Oberarme, Gesäß, Oberschenkel)2. Akuter Krankheitsbeginn (innerhalb von 2 Wochen)3. Initiale BSG-Beschleunigung von über 40 mm in der ersten Stunde4. Morgendliche Steifigkeit von mehr als einer Stunde5. Alter über 65 Jahre6. Depression und/oder Gewichtsverlust7. Beidseitiger Oberarmdruckschmerz <p>(Sensitivität: 92,00 %; Spezifität: 80,00 %)</p>	<p>Andere rheumatologische Erkrankungen</p>
<p>Therapiefreiheit</p>	<p>Andere Erkrankungen als die PMR als Ursache für die klinische Symptomatik</p>

2.1.3. Gesunde Kontrollgruppe und Vergleichsseren

Bei den Versuchen erfolgte die Bestimmung der Werte auch im Blut von gesunden Personen. Darüber hinaus wurden beim IgG4-Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) erprobte Positiv- und Negativseren aufgetragen.

2.2. Laborbefunde und klinische Befunde

Die Laborbefunde und klinischen Befunde zum Krankheitsbeginn und zur letzten Wiedervorstellung im Klinikum Bad Bramstedt wurden mit Hilfe elektronischer Krankenakten ermittelt. Zusätzlich kam auch eine Acel-basierte hauseigene Datenbank zur Suche einiger Befunde zum Einsatz. Bei der Datensammlung wurden neben epidemiologischen Daten (Geschlecht, Geburtsdatum, Alter bei der Erstmanifestation, der Erstdiagnose und der Erstvorstellung) serologische Parameter, die in Assoziation mit einer floriden RZA bekannt sind (CRP, BSG, Leukozyten, Hämoglobin, Ferritin), erfasst. Darüber hinaus wurden auch die klinischen Symptome, die Aktivität in der Bildgebung und das Vorliegen einer Biopsie einbezogen. Zusätzlich wurde das Vorhandensein eines Infektes und kardiovaskulärer Risikofaktoren wie Rauchen, Hypertonie, Hypercholesterinämie und Übergewicht sowie bei RZA-Patienten eine begleitende PMR berücksichtigt. In der Untergruppe der unbehandelten Patienten fand eine detailliertere Analyse unter Einbeziehung weiterer Parameter, wie z.B. dem Differentialblutbild, statt und es erfolgte, zur Bestätigung der Ergebnisse der IgG4-Konzentrationsbestimmung, die serologische Messung verschiedener mit dem IgG4 in Verbindung stehender Mediatoren.

2.3. In-House-Immunglobulin G4-Enzyme Linked Immunosorbent Assay

Es wurden experimentell mittels eines In-House-ELISA, der in Kooperation mit der Firma Orgentec (ORGENTEC Diagnostika GmbH, Mainz, Deutschland) entwickelt worden war, Serumproben von Patienten mit RZA, Takayasu-Arteriitis und PMR auf ihre IgG4-Serumkonzentration untersucht. Den Experimenten zugeführt wurden zudem erprobte IgG4-Positiv- und Negativseren sowie die Seren von gesunden Probanden. Beim verwendeten ELISA kommt es zur Bildung eines Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplexes (Sandwich-ELISA). Mikrotiterplatten (MTP) von der Firma NUNC wurden mit 1 µg/ml Mouse Anti-Human IgG4 (100 µl/well) von der Firma Orgentec beschichtet und konnten direkt verwendet werden. Die Testdurchführung fand bei Raumtemperatur statt. Zur Herstellung des Waschpuffers wurden 20 ml Waschpufferkonzentrat (50x-Konzentrat; Orgentec) mit 980 ml destilliertem Wasser vermischt. Der Probenpuffer entstand durch das Hinzufügen von 80 ml destilliertem Wasser zu 20 ml Probenpufferkonzentrat (5x-Konzentrat; Orgentec; gelb). Die zu untersuchenden Proben wurden zeitnah aufgetaut, mit einem Vortexmischer (Vortex Genie 2TM; Bender & Hobein AG Zurich, Switzerland; Manufactured By Scientific Industries, Inc.) durchmischt und 10 Minuten (min) lang bei 20 Grad Celsius (°C) und 3000 Umdrehungen pro Minute (rpm, revolutions per minute) zentrifugiert (Zentrifuge AllegraTM X-12R Centrifuge; Beckmann Coulter; Kalifornien,

Vereinigte Staaten). Zur Vorbereitung der Proben und Kontrollseren wurde zunächst eine 1:1000-Vorverdünnung hergestellt, indem 1 µl Serum mit 999 µl Probenpuffer vermischt wurde. 40 µl dieser Vorverdünnung wurden anschließend mit 960 µl Probenpuffer versetzt, um die gewünschte Konzentration von 1:25.000 zu erhalten. Die neben den Proben und Kontrollseren aufzutragende Standardreihe wurde bereits einen Tag vor der Verwendung in autoklavierten Glasgefäßen vorbereitet. Dazu wurde in die entsprechenden Gefäße eine bestimmte Menge Probenpuffer vorgelegt. Um die höchste Standardkonzentration von 0,6 µg/ml zu erhalten, wurden zu 10 ml Probenpuffer 5,5 µl Human IgG4 (Myeloma; Proteinkonzentration: 1,09 mg/ml; Calbiochem; Darmstadt, Deutschland) pipettiert. Die so entstandene Stockkonzentration diente, nach Durchmischung im Vortexmischer, durch serielle Verdünnung zur Herstellung der weiteren Standardlösungen in den Konzentrationen 0,3 bis 0,02 µg/ml. Das dazugehörige Pipettierschema kann der Tabelle 3 entnommen werden.

Tabelle 3: Pipettierschema zur Herstellung der Standardreihe

ST: Standard; PP: Probenpuffer

ST 6: 0,6 µg/ml:	5,5 µl Human IgG4	+	10 ml PP
ST 5: 0,3 µg/ml:	5 ml von 0,6 µg/ml	+	5 ml PP
ST 4: 0,1 µg/ml:	3 ml von 0,3 µg/ml	+	6 ml PP
ST 3: 0,04 µg/ml:	4 ml von 0,1 µg/ml	+	6 ml PP
ST 2: 0,02 µg/ml:	2,5 ml von 0,04 µg/ml	+	2,5 ml PP
ST 1: 0,00 µg/ml:	/	+	5 ml PP

300 µl der vorbereiteten Standards und Proben wurden in Radioimmunoassay (RIA)-Gefäße umgefüllt, um bei der Durchführung des ELISA mit einer Mehrkanalpipette arbeiten und dadurch die Zeitverzögerungen minimieren zu können. Es folgte das Pipettieren von je 100 µl der Standardlösung und 100 µl der zu untersuchenden Seren in der 1:25.000-Verdünnung in die entsprechende Vertiefung der Mikrotiterplatte. Während der Inkubationszeit von 30 min kam es zu einer Bindung zwischen dem an der Festphase gebundenen Anti-IgG4 und dem in den Proben vorhandenen IgG4. Durch den dreimaligen Waschgang mittels eines ELISA-Washers (Washer Hydroflex; Tecan; Männedorf, Schweiz) wurden die ungebundenen Bestandteile aus dem well entfernt und nur die Bindung von beschichtetem Anti-IgG4 und IgG4 aus der Serumprobe blieb an der Festphase bestehen. Im nächsten Schritt wurden 100 µl Goat Anti-Human IgG (heavy and light chain, H+L)-Konjugat (Peroxidase-conjugated Affini Pure Goat Anti-Human IgG (H+L); Antikörperkonzentration: 0,8 mg/ml; Jackson Immuno Research Laboratories, Inc.; West Grove, Vereinigte Staaten) in einer Verdünnung von 1:50.000 pro well hinzugefügt.

Das Konjugat stellt einen zweiten Antikörper zur Detektion dar, an dessen Ende Peroxidase als Reporterenzym gekoppelt ist. Die Konjugatverdünnung wurde bereits am Vortag in einem autoklavierten Glasgefäß hergestellt, indem zunächst 1 µl des Goat Anti-Human IgG (H+L)-Konjugates zu 999 µl Konjugatpuffer (Enzymkonjugatverdünnungspuffer; Orgentec) pipettiert wurde (1:1000-Vorverdünnung). Um die endgültige 1:50.000-Verdünnung zu erhalten, wurden anschließend 200 µl der 1:1000-Vorverdünnung mit 9800 µl Konjugatpuffer vermischt. Nach 15 min Inkubation bei Raumtemperatur folgte erneut ein dreimaliger Waschschrift mit dem ELISA-Washer, um den überschüssigen Detektionsantikörper auszuwaschen. Durch Zugabe von 100 µl 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB)-Substrat (Orgentec; ready to use) wurde das IgG4-Antigen detektiert. Während der 15 min dauernden Inkubationszeit bei Raumtemperatur im abgedunkelten Raum erfolgte durch Umsetzung des TMB-Substrates durch die Peroxidase zum Reaktionsprodukt ein Farbumschlag nach blau. Um die Enzymreaktion zu stoppen, wurden 100 µl Stopplösung (1 molare Salzsäure; Orgentec; ready to use) hinzupipettiert. Der resultierende Farbumschlag von blau nach gelb wurde photometrisch mit einem Mikrotiterplatten-Photometer (MTP Reader incl. Software Magellan; Tecan; Typ Sunrise Remote, Männedorf, Schweiz) bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen. Anhand der Extinktionsmittelwerte der Standards und deren bekannten Antigenkonzentrationen wurde eine Standardkurve erstellt, die als Kalibrierungskurve für die gemessene optische Dichte (Extinktion) diente. Zur Auswertung wurde das Programm Mikro Win (Version 5.15; Mikrotek Laborsysteme GmbH; Overath, Deutschland) verwendet.

Die Abbildung 4 zeigt das Beispiel einer Standardkurve mit bekannter IgG4-Konzentration.

Abbildung 4: Standardkurve zur Kalibrierung der gemessenen Extinktion

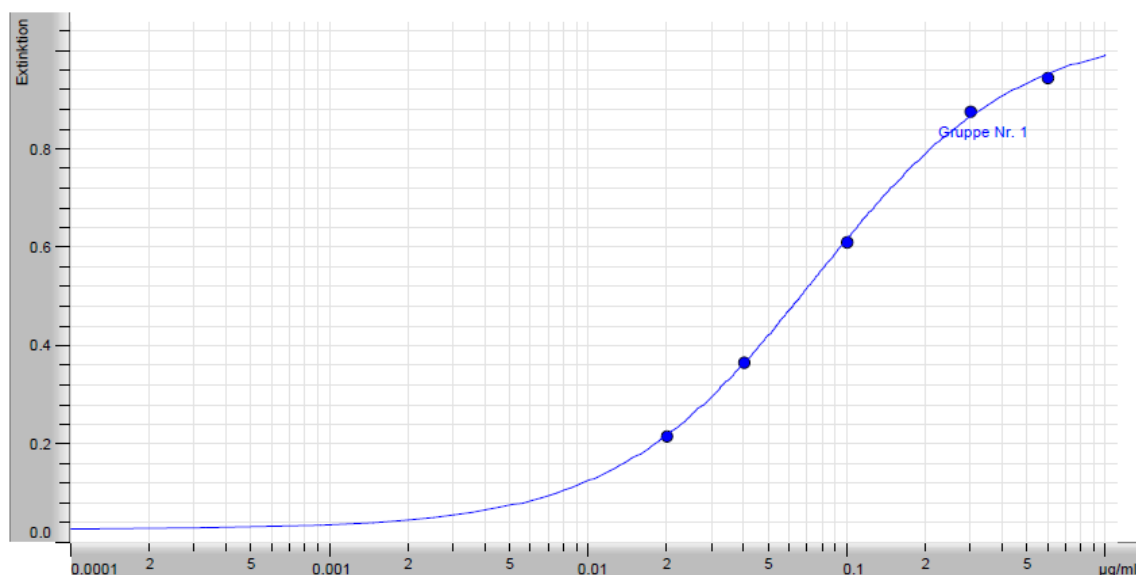


Abbildung 4: Anhand der Extinktionsmittelwerte der Standards und deren bekannten Antigenkonzentrationen wurde eine Standardkurve erstellt, die als Kalibrierungskurve für die gemessene optische Dichte (Extinktion) diene.

Eine Zusammenfassung der Arbeitsanweisungen und ein übersichtliches ELISA-Protokoll sind im Anhang zu finden unter „7.1. Arbeitsanweisungen, Verdünnungen und ELISA-Protokoll“ ab Seite 70.

2.4. Zytokin-Enzyme Linked Immunosorbent Assays und Messung des Eosinophil Cationic Protein

Die Konzentrationen von IL-4, IL-5 und IL-10 wurden mittels ELISA-Kits der Firma R&D Systems (R&D Systems, Inc.; Minneapolis, USA) bestimmt. Ebenso wie der In-House-IgG4-ELISA funktionieren auch diese kommerziell erhältlichen Tests nach dem Sandwich-Prinzip. Die Mikrotiterplatten waren mit einem Antikörper (Anti-IL-4/-5/-10) beschichtet. Standards und Proben wurden in die Wells pipettiert und bei Vorhandensein des Antigens (IL-4/-5/-10) kam es zur Antigen-Antikörper-Reaktion. Nach Auswaschen der nicht gebundenen Substanzen wurde ein Enzym-gekoppelter Detektions-Antikörper mit spezifischen Antigen-Bindungsstellen hinzugegeben. Es folgte ein weiterer Waschvorgang zum Eliminieren der ungebundenen Detektions-Antikörper. Anschließend wurde das Substrat hinzugegeben, dessen enzymatische Umsetzung einen direkten Farbumschlag herbeiführte (IL-5-ELISA). Zur Quantifizierung der IL-4- und IL-10-Konzentrationen wurde nach Zugabe des Substrates und einer Inkubationsperiode ein Amplifier ergänzt, der die Farbreaktion bewirkte. Bei allen drei Tests beendete das Hinzufügen einer Stopplösung die Reaktion. Es schloss sich die photometrische Messung der optischen Dichte (Extinktion) und die Ermittlung der Konzentrationen mit Hilfe des Programmes Magellan (MagellanTM Data Analysis Software; Tecan Typ Sunrise Remote; Tecan Austria GmbH) an.

Die ECP-Konzentration im Serum konnte mit dem ImmunoCAP ECP Assay (ImmunoCAP ECP; Unicap 100 Analyser; Thermo Fisher Scientific; Phadia Laboratory Systems GmbH; Uppsala, Schweden) quantitativ gemessen werden. Die Methode ist ein Fluoreszenz-Enzym-Immunoassay. Es handelt sich dabei um einen Sandwich-ELISA. Anders als bei den ELISAs zur Ermittlung der IgG4- und Interleukin-Konzentrationen, die auch auf dem Sandwich-Prinzip beruhen, wird nach Abstoppen der Reaktion anstatt der Extinktion die Fluoreszenz des Eluats gemessen. Sämtliche Arbeitsschritte, wie das Pipettieren von Proben und Reagenzien, Inkubation, Waschschritte und die Berechnung der Resultate, sind beim Unicap 100 Analyser automatisiert.

Eine Aufstellung der verwendeten Arbeitsmittel und Reagenzien ist im Anhang unter „7.2. Verwendete Materialien, Geräte, Reagenzien und Programme“ ab Seite 72 zu finden.

2.5. Lagerung der Proben und Reagenzien

Die Seren wurden bei -20 °C gelagert, während die anderen Reagenzien und die ELISA-Kits bei 4 °C aufbewahrt wurden.

2.6. Statistische Auswertung

Die Berechnungen wurden mit Hilfe von Graph Pad Prism (Prism 5 for Windows; Version 5.0; GraphPad Software; La Jolla, USA) durchgeführt. Die Gegenüberstellung von Mittelwerten jeweils zwei verschiedener Patientengruppen oder Kategorien erfolgte mit dem Mann-Whitney-U-Test. Wenn mehr als zwei Gruppen miteinander verglichen wurden, wurde der One-Way Analysis of variance (ANOVA)-Test eingesetzt. Er gehört, wie der Mann-Whitney-U-Test, zu den nonparametrischen Verfahren und erlaubt die Feststellung von signifikanten Unterschieden in einer Gruppe von Mittelwerten. Um Aussagen über Zusammenhänge von zwei Variablen machen zu können, wurde die lineare Regressionsanalyse angewendet. Zur Auswertung von 2x2-Kontingenztafeln wurde der exakte Test nach Fisher genutzt, der die Unabhängigkeit von zwei Variablen auf seine statistische Signifikanz testet. Um die Leistungsfähigkeit der gemessenen Parameter als diagnostische Testgrößen zu bewerten, wurde die Receiver Operating Characteristic (ROC)-Analyse verwendet. Diese stellt in einer Kurve die Richtig-Positiv-Raten (Sensitivität) und die Falsch-Positiv-Raten (1-Spezifität) einander gegenüber und ermittelt den optimalen Schwellenwert mit gutem Kosten-Nutzen-Verhältnis zwischen Sensitivität und Spezifität. So gelingt eine Aussage darüber, wie gut die Testgröße Personen mit bzw. ohne das entsprechende Merkmal voneinander trennen kann. Um die Erkrankungswahrscheinlichkeit einer exponierten Gruppe relativ zur Erkrankungswahrscheinlichkeit einer nicht exponierten Gruppe auszumachen, wurde das relative Risiko (RR) berechnet. Ein $RR = 1$ bedeutet, dass das Risiko der Exponierten genauso groß ist wie das Risiko der Nicht-Exponierten. Ein $RR > 1$ lässt vermuten, dass die Exposition einen Risikofaktor darstellt (Das Risiko der Exponierten ist größer als das Risiko der Nicht-Exponierten.), während ein $RR < 1$ annehmen lässt, dass die Exposition protektiv wirkt (Das Risiko der Exponierten ist kleiner als das Risiko der Nicht-Exponierten.). Als Maß für die Diskrepanz zwischen den Daten und der Nullhypothese wurde der p-Wert herangezogen. Werte mit einem $p < 0,05$ (Konfidenzintervall: 95 %) wurden als statistisch signifikant angesehen und führten zum Verwerfen der Nullhypothese.

3. Ergebnisse

3.1. Klinische Charakteristika

Bei der retrospektiven Betrachtung der Patientencharakteristika ergaben sich folgende Daten (Tabelle 4):

Tabelle 4a: Übersicht über die klinischen Charakteristika therapierter und untherapierter Patienten

SD: standard deviation, Standardabweichung

Vergleichsparameter	RZA therapiert und untherapiert (n=41)	Takayasu- Arteriitis therapiert und untherapiert (n=13)	PMR untherapiert (n=27)	Gesunde Kontroll- gruppe (n=15)
Mittelwert des Alters in Jahren ± SD bei Erstdiagnose	67,88 ± 7,32	43,89 ± 8,90	68,51 ± 9,05	58,21 ± 13,38
Geschlecht (m:w)	11:30	4:9	6:21	6:9
Geschlecht (m:w) in %	26,83: 73,17	30,77: 69,23	22,22: 77,78	40,00: 60,00
Anzahl der unbehandelten Patienten bei Erstvorstellung	19 (46,34 %)	6 (46,15 %)	27 (100 %)	15 (100 %)

Tabelle 4b: Serologische Parameter bei den untherapierten Patienten

Mittelwert des Vergleichsparameters bei Erstvorstellung	RZA untherapiert (n=19)	Takayasu- Arteriitis untherapiert (n=6)	PMR untherapiert (n=27)	Gesunde Kontroll- gruppe (n=15)
CRP in mg/dl ± SD	14,02 ± 28,90	1,78 ± 1,61	8,95 ± 19,55	/
BSG in mm/h ± SD	78,53 ± 22,16	41,33 ± 30,24	68,35 ± 25,34	/
Leukozyten in tausend/ μ l ± SD	8,81 ± 2,39	10,35 ± 1,50	9,50 ± 2,53	/
Hämoglobin in g/dl ± SD	11,20 ± 1,70	12,70 ± 1,05	11,96 ± 1,24	/
Ferritin in μ g/l ± SD	561,40 ± 779,10	71,75 ± 67,12	265,20 ± 266,60	/

3.1.1. Alter

Takayasu-Arteriitis-Patienten ($43,89 \pm 8,90$ Jahre) waren hochsignifikant jünger als die Patienten mit RZA ($67,88 \pm 7,32$ Jahre; $p < 0,0001$) und PMR ($68,51 \pm 9,05$ Jahre; $p < 0,0001$). RZA- und PMR-Patienten zeigten eine ähnliche Altersverteilung, sodass sich kein signifikanter Unterschied ergab ($p = 0,5432$).

3.1.2. Geschlecht

In allen Gruppen waren mehr Frauen vertreten, sodass die Betrachtung der Geschlechterverteilung keine signifikanten Unterschiede zeigte (RZA: 73,17 % Frauen; Takayasu-Arteriitis: 69,23 % Frauen; PMR: 77,78 % Frauen; gesunde Kontrollgruppe: 60,00 % Frauen).

3.1.3. C-reaktives Protein und Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit in der Gruppe der untherapierten Patienten

In der Gruppe der untherapierten RZA ($n=19$)- und PMR ($n=27$)-Patienten herrschte eine vergleichbar hohe Entzündungsserologie, wie die Diagramme 1 und 2 verdeutlichen. Es konnte bei RZA ($14,02 \pm 28,90$ mg/dl)- und PMR ($8,95 \pm 19,55$ mg/dl)-Patienten keine signifikant unterschiedlich hohe mittlere CRP-Serumkonzentration festgestellt werden ($p = 0,0878$). Die Messung bei den untherapierten Takayasu-Arteriitis-Patienten ($n=6$) ergab mit mittleren Konzentrationen von $1,78 \pm 1,61$ mg/dl signifikant niedrigere Werte im Vergleich zu RZA ($p = 0,0028$)- und PMR ($p = 0,0152$)-Patienten. Die entzündliche Aktivität, gemessen an der BSG, ergab, in Übereinstimmung mit dem CRP, im RZA ($78,53 \pm 22,16$ mm/h)- und PMR ($68,35 \pm 25,34$ mm/h)-Kollektiv vergleichbar hohe Messwerte ($p = 0,2351$). Eine im Vergleich zu den RZA ($p = 0,0097$)- und PMR ($p = 0,0474$)-Patienten signifikant niedrigere BSG konnte dagegen bei Patienten mit Takayasu-Arteriitis ($41,33 \pm 30,24$ mm/h) festgestellt werden.

Diagramm 1: Vergleich der CRP-Mittelwerte: RZA und PMR (untherapierte Patienten)

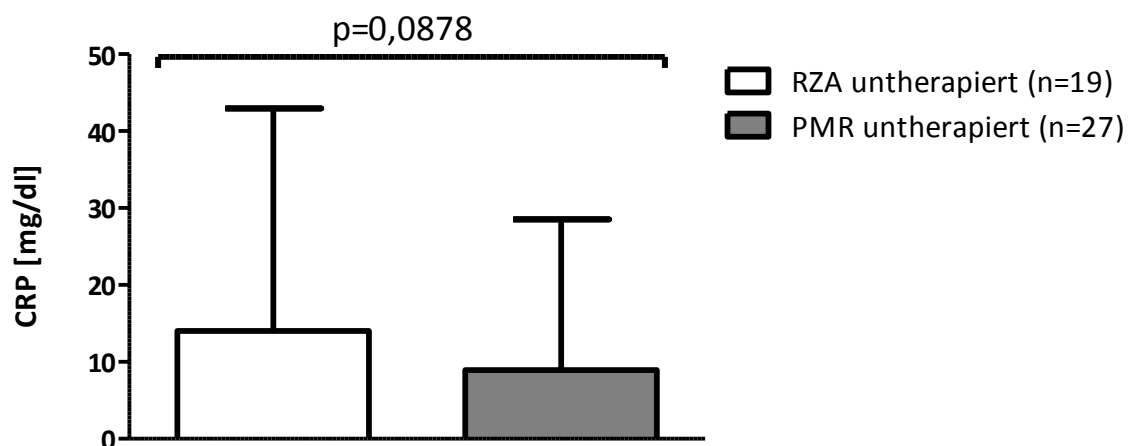
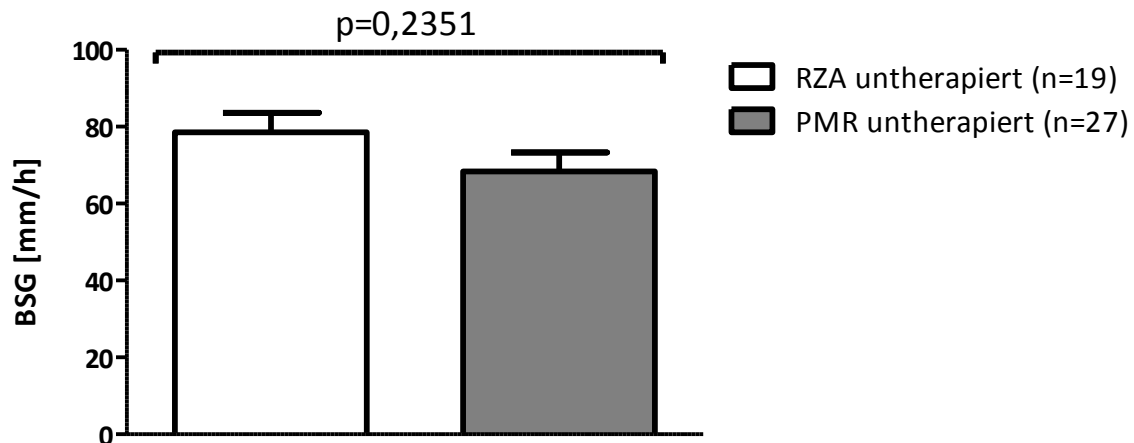


Diagramm 2: Vergleich der BSG-Mittelwerte: RZA und PMR (untherapierte Patienten)



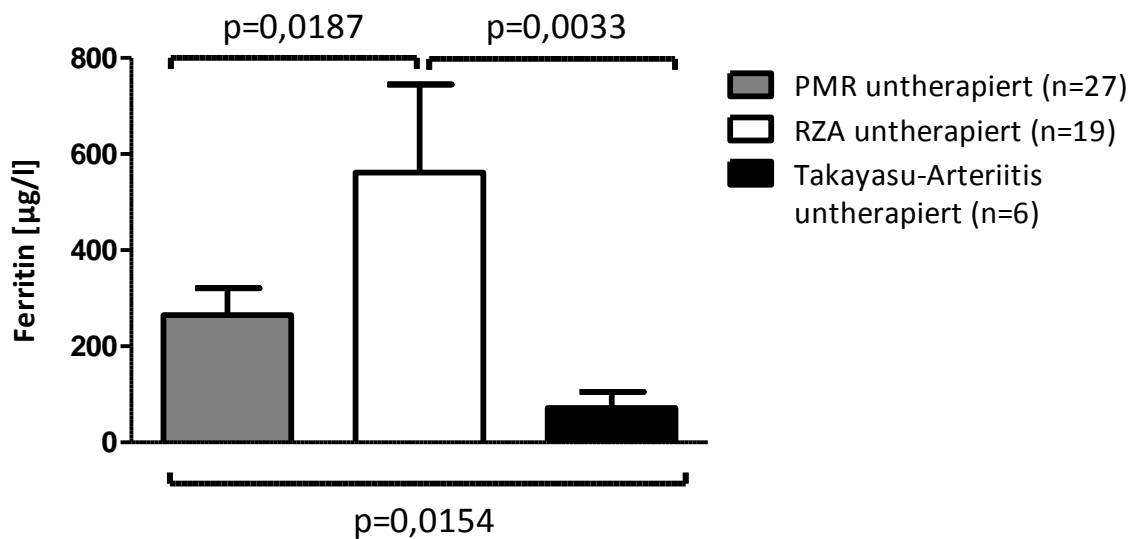
3.1.4. Leukozyten und Hämoglobin in der Gruppe der untherapierten Patienten

Der Vergleich der Leukozyten (RZA: $8,81 \pm 2,39$ tausend/ μl ; Takayasu-Arteriitis: $10,35 \pm 1,50$ tausend/ μl ; PMR: $9,50 \pm 2,53$ tausend/ μl)- und Hämoglobinmessungen (RZA: $11,20 \pm 1,70$ g/dl; Takayasu-Arteriitis: $12,70 \pm 1,05$ g/dl; PMR: $11,96 \pm 1,24$ g/dl) im Serum der untherapierten RZA (n=19)-, Takayasu-Arteriitis (n=6)- und PMR (n=27)-Patienten zeigte keine signifikanten Unterschiede (Leukozyten: RZA vs. Takayasu-Arteriitis $p=0,1431$; RZA vs. PMR $p=0,5467$; PMR vs. Takayasu-Arteriitis $p=0,4006$); (Hämoglobin: RZA vs. Takayasu-Arteriitis $p=0,0903$; RZA vs. PMR $p=0,1373$; PMR vs. Takayasu-Arteriitis $p=0,1610$).

3.1.5. Ferritin in der Gruppe der untherapierten Patienten

Das Ferritin war bei den untherapierten RZA-Patienten (n=19; $561,40 \pm 779,10$ $\mu\text{g/l}$) signifikant höher als bei untherapierten PMR (n=27; $265,20 \pm 266,60$ $\mu\text{g/l}$)- und untherapierten Takayasu-Arteriitis-Patienten (n=6; $71,75 \pm 67,12$ $\mu\text{g/l}$). Zudem zeigten die PMR-Patienten signifikant höhere mittlere Ferritin-Serumkonzentrationen als die Takayasu-Arteriitis-Patienten. Die entsprechenden p-Werte können Diagramm 3 entnommen werden.

Diagramm 3: Vergleich der Ferritin-Mittelwerte: RZA, Takayasu-Arteriitis und PMR
(untherapierte Patienten)



3.2. Immunglobulin G4-Serumkonzentrationen

3.2.1. Immunglobulin G4 bei der Riesenzellarteriitis

Als Folge der Vaskulitis können bei der RZA Gefäßkomplikationen wie Stenosen (Hamrin et al., 1964; Aiello et al., 1993) oder Aneurysmata (Nuenninghoff et al., 2003a) auftreten. Um ähnlich viele Patienten aus jeder Gruppe zu untersuchen und um herauszufinden, ob sich diese Unterschiede im Ausmaß des Gefäßbefalles auch in der IgG4-Serumkonzentration widerspiegeln, fand innerhalb der RZA-Gruppe ein Matching statt, das die in Tabelle 5 dargestellten Patientendaten ergab. Es wurde darauf geachtet, möglichst homogene Gruppen zu schaffen, um eine gute Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu erreichen, wobei dem Therapiestatus als bedeutsamster Confounder die höchste Priorität eingeräumt wurde.

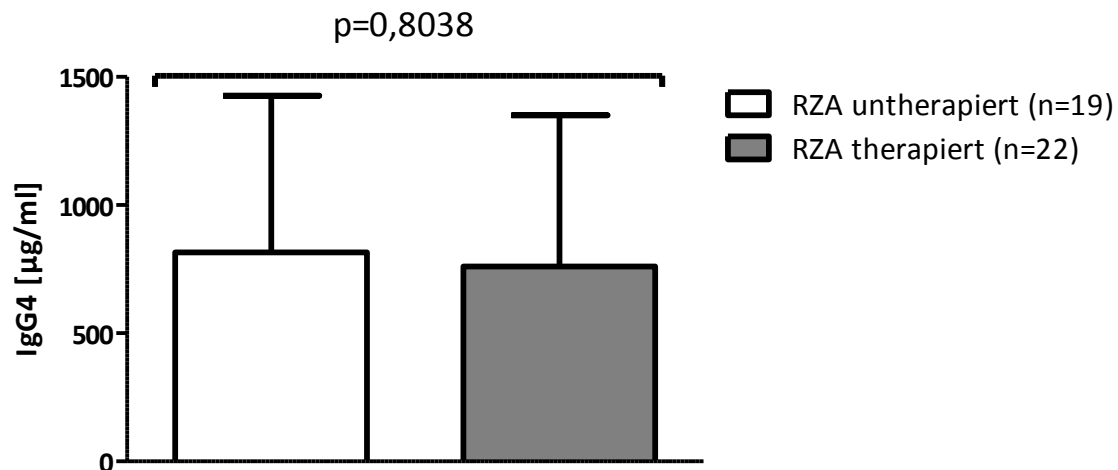
Tabelle 5: Klinische Charakteristika in der nach Gefäßbeteiligung (Aneurysma, Stenose, reguläre Gefäßmorphologie) untergliederten RZA-Gruppe (n=41)

Vergleichsparameter	Aneurysma (n=13)	Stenose (n=13)	Reguläre Gefäßmorphologie (n=15)
Geschlecht (m:w)	4:9	2:11	5:10
Mittelwert des Alters in Jahren \pm SD bei Erstdiagnose	66,65 \pm 9,00	69,54 \pm 5,58	65,42 \pm 5,26
Positive Histologie	2	4	4
Anzahl der unbehandelten Patienten bei Erstvorstellung	6 (46,15 %)	6 (46,15 %)	7 (46,67 %)
Therapie mit Disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs)	0	1	0
Positive Bildgebung	11	11	13
CRP > 0,5 mg/dl bei Erstvorstellung	12	12	14
BSG > 30 mm/h bei Erstvorstellung	9	12	11
CRP und/oder BSG positiv bei Erstvorstellung	12	13	14

Bei Patienten mit RZA fanden sich im Mittel keine erhöhten IgG4-Serumkonzentrationen (786,2 \pm 593,0 μ g/ml). Jedoch zeigten 3 der insgesamt 41 betrachteten Patienten Konzentrationen über dem Cut-off-Wert von 1400 μ g/ml (7,32 %). In der Gruppe der unbehandelten RZA-Patienten wurden bei 2 von 19 Patienten erhöhte IgG4-Werte gemessen (10,53 %). Die Gegenüberstellung der Gruppen, unterteilt nach ihrer Gefäßbeteiligung (Aneurysma n=13, Stenose n=13, reguläre Gefäßmorphologie n=15), zeigte bei Stenose-Patienten (864,1 \pm 878,8 μ g/ml) gegenüber den Personen mit Aneurysma (753,3 \pm 432,3 μ g/ml; p=0,7976) und regulärer Gefäßmorphologie (747,3 \pm 417,5 μ g/ml; p=0,5190) keine signifikanten Unterschiede. Auch der Vergleich der IgG4-Serumkonzentrationen zwischen den Patienten mit Aneurysma und denen mit regulärer Gefäßmorphologie ergab keine signifikanten Unterschiede (p=0,7822).

Diagramm 4 stellt dar, dass untherapierte Personen mit RZA (n=19; 816,1 \pm 610,6 μ g/ml) keine signifikant höheren IgG4-Serumkonzentrationen als Patienten unter Therapie (n=22; 760,5 \pm 590,5 μ g/ml) zeigten (p=0,8038).

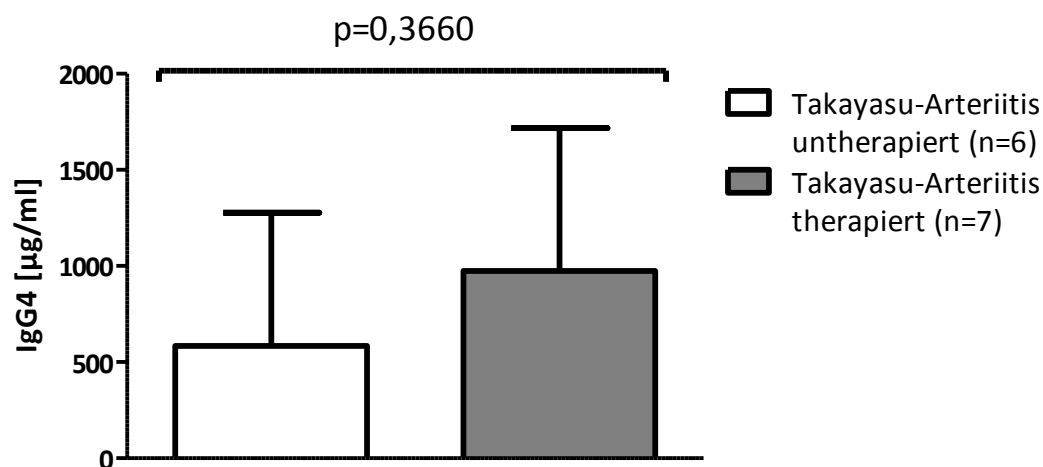
Diagramm 4: Vergleich der IgG4-Mittelwerte: RZA untherapiert und therapiert



3.2.2. Immunglobulin G4 bei der Takayasu-Arteriitis

Bei Takayasu-Arteriitis-Patienten (n=13) ließ sich ein Mittelwert von $793,6 \pm 719,9 \mu\text{g IgG4/ml}$ ermitteln. In 4 der 13 Proben lag die IgG4-Serumkonzentration über $1400 \mu\text{g/ml}$ (30,77 %). In der Untergruppe der unbehandelten Patienten (n=6) zeigte ein Serum einen Wert über dem Cut-off (16,67 %). Diagramm 5 zeigt, dass sich zwischen therapierten (n=7; $973,5 \pm 744,3 \mu\text{g/ml}$) und untherapierten (n=6; $583,9 \pm 693,5 \mu\text{g/ml}$) Patienten kein signifikanter Unterschied in der IgG4-Serumkonzentration finden ließ ($p=0,3660$).

Diagramm 5: Vergleich der IgG4-Mittelwerte: Takayasu-Arteriitis untherapiert und therapiert



3.2.3. Immunglobulin G4 bei der Polymyalgia rheumatica

Im Serum der unbehandelten PMR-Patienten (n=27) konnten im Mittel IgG4-Konzentrationen von $1300 \pm 1067 \mu\text{g/ml}$ festgestellt werden. 12 der insgesamt 27 untersuchten Patienten zeigten IgG4-Konzentrationen über $1400 \mu\text{g/ml}$ (44,44 %).

3.2.4. Immunglobulin G4 bei der gesunden Kontrollgruppe

Im Mittel lag die IgG4-Konzentration im Serum der gesunden Kontrollgruppe (n=15) bei $791,1 \pm 639,7 \mu\text{g/ml}$. Bei 1 der 15 Patienten wurde ein Wert größer als $1400 \mu\text{g/ml}$ gemessen (6,67 %).

3.2.5. Zusammenfassende Gegenüberstellung der Immunglobulin G4-Messergebnisse

Tabelle 6 zeigt zusammenfassend die mittleren IgG4-Konzentrationen therapiert und untherapierter Patienten in den verschiedenen Gruppen. Zudem kommt die Zahl der Patienten, bei denen sich IgG4-Werte oberhalb von $1400 \mu\text{g/ml}$ im Serum fanden, zur Darstellung.

Tabelle 6: Gegenüberstellung der IgG4-Mittelwerte und der Patienten oberhalb des Cut-offs:

RZA, Takayasu-Arteriitis, PMR und gesunde Kontrollgruppe

(therapierte und untherapierte Patienten)

	RZA therapiert und untherapiert (n=41)	Takayasu- Arteriitis therapiert und untherapiert (n=13)	PMR untherapiert (n=27)	Gesunde Kontrollgruppe (n=15)
Mittelwert der IgG4-Konzentration in $\mu\text{g/ml} \pm \text{SD}$	$786,2 \pm 593,0$	$793,6 \pm 719,9$	1300 ± 1067	$791,1 \pm 639,7$
Anteil der Patienten über dem Cut-off- Wert von $1400 \mu\text{g/ml}$ in %	7,32 (3 von 41)	30,77 (4 von 13)	44,44 (12 von 27)	6,67 (1 von 15)

In Tabelle 7 sind die mittleren IgG4-Serumkonzentrationen der untherapierten Patienten aus allen Gruppen sowie die Zahl der Patienten, die IgG4-Werte oberhalb des Cut-offs zeigten, dargestellt.

Tabelle 7: Gegenüberstellung der IgG4-Mittelwerte und der Patienten oberhalb des Cut-offs: RZA, Takayasu-Arteriitis, PMR und gesunde Kontrollgruppe (untherapierte Patienten)

	RZA untherapiert (n=19)	Takayasu- Arteriitis untherapiert (n=6)	PMR untherapiert (n=27)	Gesunde Kontrollgruppe (n=15)
Mittelwert der IgG4-Konzentration in µg/ml ± SD	816,1 ± 610,6	583,9 ± 693,5	1300 ± 1067	791,1 ± 639,7
Anteil der Patienten über dem Cut-off-Wert von 1400 µg/ml in %	10,53 (2 von 19)	16,67 (1 von 6)	44,44 (12 von 27)	6,67 (1 von 15)

Im Folgenden werden die IgG4-Messergebnisse der verschiedenen Patientengruppen detailliert miteinander verglichen.

3.2.6. Immunglobulin G4-Vergleich: Riesenzellarteriitis und Takayasu-Arteriitis

RZA (n=41; 786,2 ± 593,0 µg/ml)- und Takayasu-Arteriitis (n=13; 793,6 ± 719,9 µg/ml)-Patienten zeigten ähnlich hohe IgG4-Konzentrationen im Serum (p=0,5574). Bei den RZA-Patienten (n=41) wiesen 7,32 % der Patienten (3 von 41) IgG4-Konzentrationen über dem Cut-off von 1400 µg/ml auf. Bei den Takayasu-Arteriitis-Patienten (n=13) war dies signifikant häufiger der Fall (30,77 %; 4 von 13) (p=0,0494). Betrachtete man allerdings nur die untherapierten RZA (n=19)- und Takayasu-Arteriitis (n=6)-Patienten, dann ergab sich kein signifikanter Unterschied [(RZA: 10,53 %; 2 von 19 vs. Takayasu-Arteriitis: 16,67 %; 1 von 6) (p=1,0000)].

3.2.7. Immunglobulin G4-Vergleich: Riesenzellarteriitis und Polymyalgia rheumatica

Hochsignifikant mehr PMR- als RZA- Patienten wiesen IgG4-Werte über dem Cut-off-Wert von 1400 µg/ml auf (PMR untherapiert, n=27: 44,44 % vs. RZA therapiert und untherapiert, n=41: 7,32 %; p=0,0006); (PMR untherapiert, n=27: 44,44 % vs. RZA untherapiert, n=19: 10,53 %; p=0,0218). Die Tabellen 8 und 9 zeigen die absoluten Zahlen. In den Diagrammen 6 und 7 erfolgt die graphische Darstellung. Beim Vergleich der Mittelwerte zeigten sich zwar keine signifikanten Unterschiede, aber mit einem Mittelwert von 1300 ± 1067 µg IgG4/ml lagen die Konzentrationen bei den PMR-Patienten (n=27) tendenziell höher als bei den untherapierten RZA-Patienten (n=19) mit 816,1 ± 610,6 µg IgG4/ml (p=0,1736) bzw. therapierten und untherapierten RZA-Patienten (n=41) mit 786,2 ± 593,0 µg IgG4/ml (p=0,0711).

Tabelle 8: Anzahl der Patienten oberhalb und unterhalb des IgG4-Cut-offs: RZA und PMR (therapierte und untherapierte Patienten)

	RZA therapiert und untherapiert (n=41)	PMR untherapiert (n=27)
IgG4 > 1400 µg/ml	3 (7,32 %)	12 (44,44 %)
IgG4 < 1400 µg/ml	38 (92,68 %)	15 (55,56 %)
p-Wert	0,0006 (hochsignifikant)	

Diagramm 6: Prozentualer Anteil der Patienten oberhalb (IgG4+) und unterhalb (IgG4-) des IgG4-Cut-offs: RZA und PMR (therapierte und untherapierte Patienten)

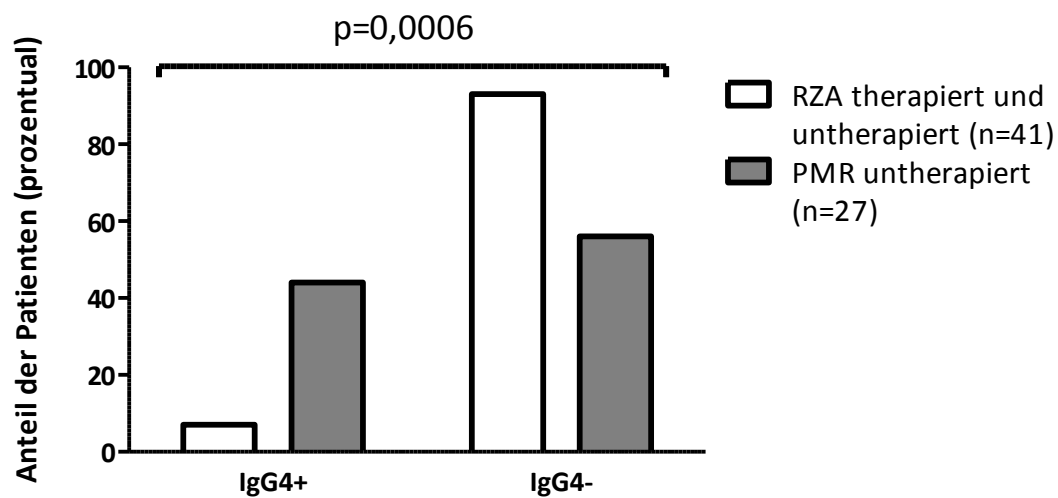
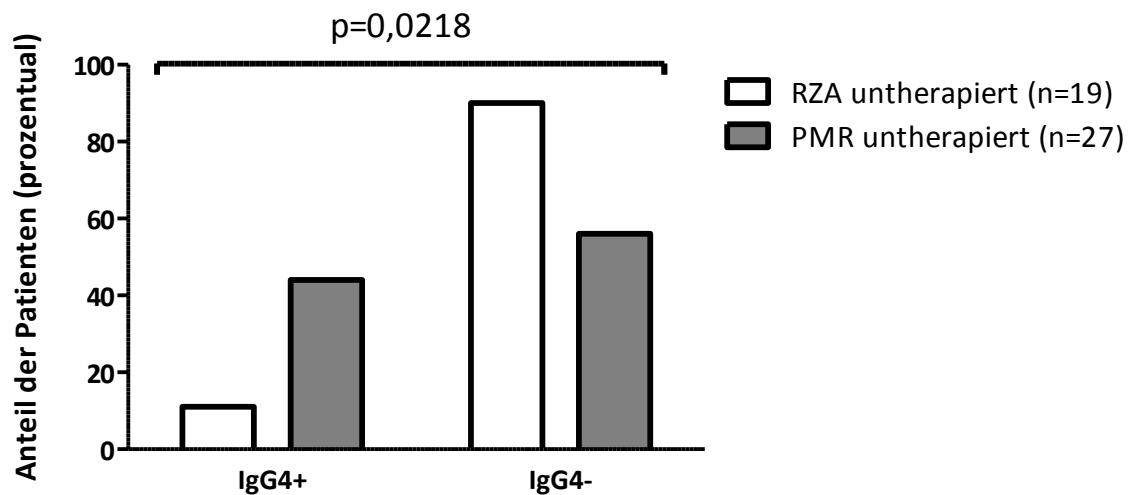


Tabelle 9: Anzahl der Patienten oberhalb und unterhalb des IgG4-Cut-offs: RZA und PMR (untherapierte Patienten)

	RZA untherapiert (n=19)	PMR untherapiert (n=27)
IgG4 > 1400 µg/ml	2 (10,53 %)	12 (44,44 %)
IgG4 < 1400 µg/ml	17 (89,47 %)	15 (55,56 %)
p-Wert	0,0218	

Diagramm 7: Prozentualer Anteil der Patienten oberhalb (IgG4+) und unterhalb (IgG4-) des IgG4-Cut-offs: RZA und PMR (untherapierte Patienten)



3.2.8. Immunglobulin G4-Vergleich: Polymyalgia rheumatica und Takayasu-Arteriitis

Im Serum der Takayasu-Arteriitis-Patienten war die IgG4-Konzentration mit $793,6 \pm 719,9 \mu\text{g/ml}$ (therapierte und untherapierte Patienten, $n=13$; $p=0,1259$) bzw. $583,9 \pm 693,5 \mu\text{g/ml}$ (untherapierte Patienten, $n=6$; $p=0,0652$) nicht signifikant niedriger als bei den PMR-Patienten mit mittleren IgG4-Spiegeln von $1300 \pm 1067 \mu\text{g/ml}$ (alle untherapiert, $n=27$). Während bei den Takayasu-Arteriitis-Patienten ($n=13$) 30,77 % der Patienten (4 von 13) IgG4-Konzentrationen über dem Cut-off von $1400 \mu\text{g/ml}$ aufwiesen, war dies bei den PMR-Patienten ($n=27$) in 44,44 % der gemessenen Seren (12 von 27) der Fall ($p=0,5027$). Auch bei ausschließlicher Betrachtung der untherapierten Takayasu-Arteriitis ($n=6$)- und PMR ($n=27$)-Patienten ergaben sich keine signifikanten Unterschiede [(Takayasu-Arteriitis: 16,67 %; 1 von 6 vs. PMR: 44,44 %; 12 von 27) ($p=0,3644$)].

3.2.9. Immunglobulin G4-Vergleich: Riesenzellarteriitis/Takayasu-Arteriitis/Polymyalgia rheumatica und gesunde Kontrollgruppe

Weder der Vergleich der IgG4-Mittelwerte ($p=0,8970$; therapierte und untherapierte RZA-Patienten, $n=41$); ($p=0,7549$; untherapierte RZA-Patienten, $n=19$), noch die Untergliederung der Kohorte in Patienten mit Werten über bzw. unter dem festgelegten Cut-off-Wert ($p=1,0000$; therapierte und untherapierte RZA-Patienten, $n=41$); ($p=1,0000$; untherapierte RZA-Patienten, $n=19$), offenbarte signifikante Unterschiede zwischen RZA-Patienten und der gesunden Kontrollgruppe ($n=15$), wie die Tabellen 10 und 11 verdeutlichen.

Tabelle 10: Vergleich der IgG4-Mittelwerte: RZA und gesunde Kontrollgruppe

(therapierte und untherapierte Patienten; untherapierte Patienten)

	RZA therapiert und untherapiert (n=41)	Gesunde Kontrollgruppe (n=15)
Mittelwert der IgG4-Konzentration in $\mu\text{g/ml} \pm \text{SD}$	786,2 \pm 593,0	791,1 \pm 639,7
p-Wert	0,8970	
	RZA untherapiert (n=19)	Gesunde Kontrollgruppe (n=15)
Mittelwert der IgG4-Konzentration in $\mu\text{g/ml} \pm \text{SD}$	816,1 \pm 610,6	791,1 \pm 639,7
p-Wert	0,7549	

Tabelle 11: Anzahl der Patienten oberhalb und unterhalb des IgG4-Cut-offs: RZA und gesunde Kontrollgruppe (therapierte und untherapierte Patienten; untherapierte Patienten)

	RZA therapiert und untherapiert (n=41)	Gesunde Kontrollgruppe (n=15)
IgG4 > 1400 $\mu\text{g/ml}$	3 (7,32 %)	1 (6,67 %)
IgG4 < 1400 $\mu\text{g/ml}$	38 (92,68 %)	14 (93,33 %)
p-Wert	1,0000	
	RZA untherapiert (n=19)	Gesunde Kontrollgruppe (n=15)
IgG4 > 1400 $\mu\text{g/ml}$	2 (10,53 %)	1 (6,67 %)
IgG4 < 1400 $\mu\text{g/ml}$	17 (89,47 %)	14 (93,33 %)
p-Wert	1,0000	

Wie auch schon bei der Gegenüberstellung der RZA-Patienten mit der gesunden Kontrollgruppe offenbarte weder der Vergleich der IgG4-Mittelwerte ($p=0,7471$; therapierte und untherapierte Takayasu-Arteriitis-Patienten, $n=13$); ($p=0,2590$; untherapierte Takayasu-Arteriitis-Patienten, $n=6$), noch die Untergliederung der Kohorte in Patienten mit Werten über bzw. unter dem festgelegten Cut-off-Wert ($p=0,1528$; therapierte und untherapierte Takayasu-Arteriitis-Patienten, $n=13$); ($p=0,5000$; untherapierte Takayasu-Arteriitis-Patienten, $n=6$) signifikante Unterschiede zwischen Takayasu-Arteriitis-Patienten und der gesunden Kontrollgruppe ($n=15$). Die Mittelwerte und die Anzahl der Patienten mit IgG4-Serumkonzentrationen oberhalb bzw. unterhalb des Cut-offs finden Sie in den Tabellen 12 und 13.

Tabelle 12: Vergleich der IgG4-Mittelwerte: Takayasu-Arteriitis und gesunde Kontrollgruppe (therapierte und untherapierte Patienten; untherapierte Patienten)

	Takayasu-Arteriitis therapiert und untherapiert (n=13)	Gesunde Kontrollgruppe (n=15)
Mittelwert der IgG4-Konzentration in µg/ml ± SD	793,6 ± 719,9	791,1 ± 639,7
p-Wert	0,7471	
	Takayasu-Arteriitis untherapiert (n=6)	Gesunde Kontrollgruppe (n=15)
Mittelwert der IgG4-Konzentration in µg/ml ± SD	583,9 ± 693,5	791,1 ± 639,7
p-Wert	0,2590	

Tabelle 13: Anzahl der Patienten oberhalb und unterhalb des IgG4-Cut-offs: Takayasu-Arteriitis und gesunde Kontrollgruppe (therapierte und untherapierte Patienten; untherapierte Patienten)

	Takayasu-Arteriitis therapiert und untherapiert (n=13)	Gesunde Kontrollgruppe (n=15)
IgG4 > 1400 µg/ml	4 (30,77 %)	1 (6,67 %)
IgG4 < 1400 µg/ml	9 (69,23 %)	14 (93,33 %)
p-Wert	0,1528	
	Takayasu-Arteriitis untherapiert (n=6)	Gesunde Kontrollgruppe (n=15)
IgG4 > 1400 µg/ml	1 (16,67 %)	1 (6,67 %)
IgG4 < 1400 µg/ml	5 (83,33 %)	14 (93,33 %)
p-Wert	0,5000	

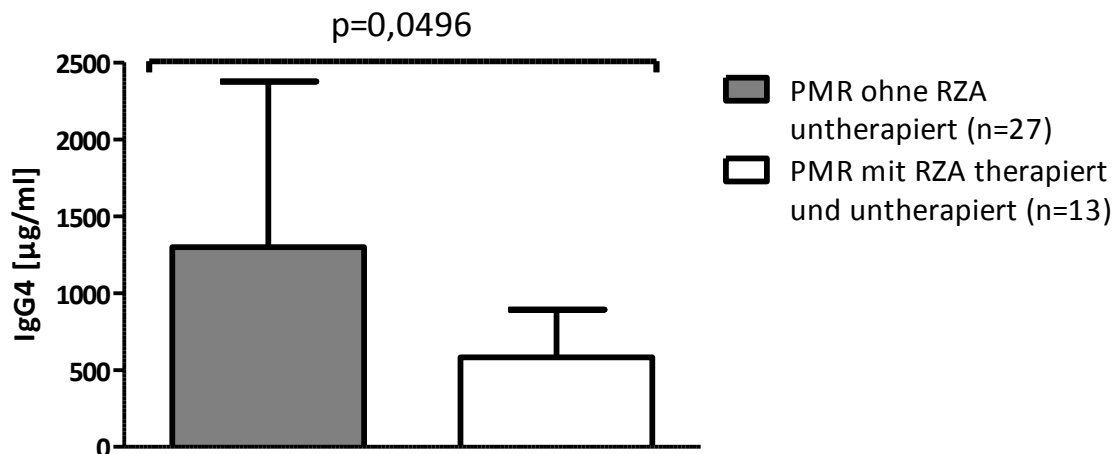
Beim Vergleich der IgG4-Mittelwerte zeigten sich zwar keine signifikanten Unterschiede, aber mit einem Mittelwert von $1300 \pm 1067 \mu\text{g IgG4/ml}$ lagen die Serumkonzentrationen bei den PMR-Patienten (n=27) tendenziell höher als bei der gesunden Kontrollgruppe (n=15) mit mittleren Konzentrationen von $791,1 \pm 639,7 \mu\text{g IgG4/ml}$ (p=0,2173). Signifikant mehr PMR-Patienten (n=27) als gesunde Personen (n=15) lagen über dem Cut-off-Wert von 1400 µg IgG4/ml [(PMR: 44,44 %; 12 von 27 vs. gesunde Kontrollgruppe: 6,67 %; 1 von 15) (p=0,0148)].

3.2.10. Immunglobulin G4-Vergleich: Polymyalgia rheumatica-Patienten mit Riesenzellarteriitis und Polymyalgia rheumatica-Patienten ohne Riesenzellarteriitis

Insgesamt 13 der 41 RZA-Patienten (und 4 der 19 untherapierten RZA-Patienten) wiesen eine PMR-Symptomatik auf. Vergleich man die mittleren IgG4-Serumkonzentrationen dieser 13 Patienten mit denen der reinen PMR-Patienten (n=27), so ergaben sich signifikante Unterschiede.

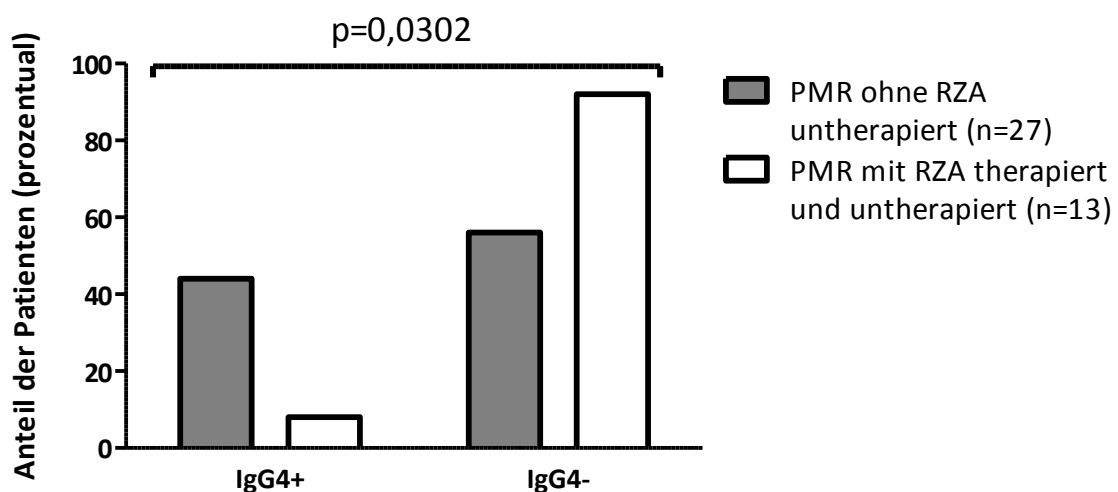
Diagramm 8 zeigt, dass PMR-Patienten mit zusätzlicher RZA ($n=13$; $581,3 \pm 311,4 \text{ } \mu\text{g/ml}$) deutlich niedrigere mittlere IgG4-Werte als die Patienten ohne die RZA ($n=27$; $1300 \pm 1076 \text{ } \mu\text{g/ml}$) zeigten ($p=0,0496$).

Diagramm 8: Vergleich der IgG4-Mittelwerte: PMR ohne RZA und PMR mit RZA (therapierte und untherapierte Patienten)



In Übereinstimmung hiermit zeigten auch signifikant mehr reine PMR-Patienten (12 von 27; 44,44 %) als Patienten mit zusätzlicher RZA (1 von 13; 7,69 %) IgG4-Konzentrationen über dem Cut-off von $1400 \text{ } \mu\text{g/ml}$ ($p=0,0302$). Diagramm 9 verdeutlicht diesen Unterschied.

Diagramm 9: Prozentualer Anteil der Patienten oberhalb (IgG4+) und unterhalb (IgG4-) des IgG4-Cut-offs: PMR ohne RZA und PMR mit RZA (therapierte und untherapierte Patienten)



Die Berechnung des relativen Risikos ergab, dass Patienten mit dem klinischen Bild einer PMR bei nicht erhöhtem IgG4 gegenüber den Patienten mit erhöhtem IgG4 ein 5,78-fach erhöhtes Risiko haben, gleichzeitig an einer RZA zu leiden bzw. eine RZA zu entwickeln. Patienten mit einer IgG4-Konzentration oberhalb des Cut-offs dagegen haben ein verringertes Risiko, zusätzlich zur bestehenden PMR eine RZA zu zeigen (RR=0,17).

3.3. Ergänzende Erhebungen und Messungen in der Untergruppe der untherapierten Patienten

3.3.1. Zahl der eosinophilen Granulozyten (absolut)

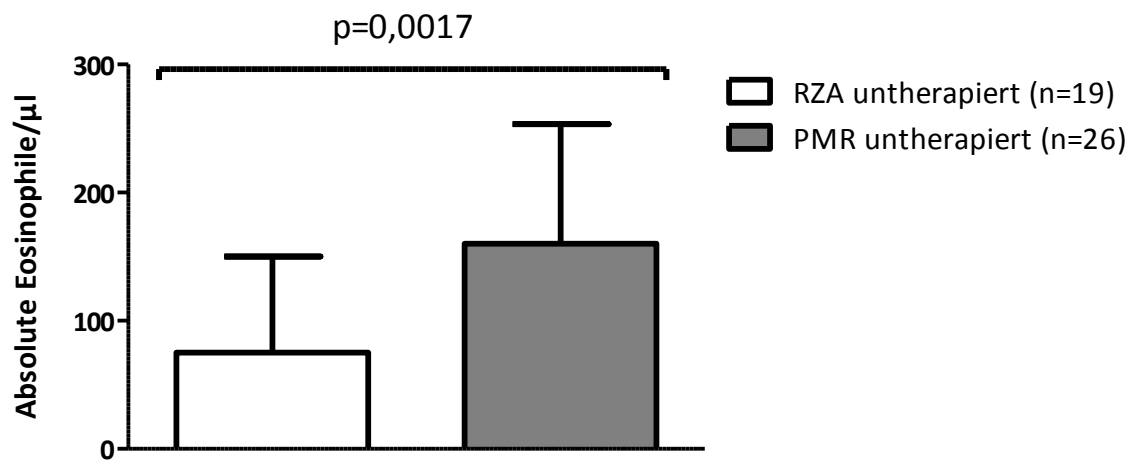
Anhand elektronischer Krankenakten wurde bei den unbehandelten Patienten (RZA n=19, Takayasu-Arteriitis n=6, PMR n=26) das Differentialblutbild erhoben. Die absolute Zahl der eosinophilen Granulozyten wurde hierbei im Besonderen betrachtet, da die eosinophile Reaktion einen Effektor der T-Helferzelle-2 (TH2)-Antwort darstellt. Für die gesunde Kontrollgruppe lagen diese Werte nicht vor. Die Analyse der eosinophilen Granulozyten erfolgte als Bestätigung der Ergebnisse der IgG4-Messungen, da zum Bild der IgG4-RD nicht nur die Erhöhung der IgG4-Serumkonzentration, sondern auch eine Gewebs- und Serumeosinophilie gehören kann (Terumi Kamisawa et al., 2009; Zen and Nakanuma, 2010). Die höchsten Werte wurden bei untherapierten Takayasu-Arteriitis-Patienten (n=6; $284,3 \pm 297,3$ Eosinophile/ μ l) gemessen, die niedrigsten bei den untherapierten RZA-Patienten (n=19; $75,1 \pm 75,2$ Eosinophile/ μ l). Die untherapierten PMR-Patienten (n=26) zeigten eine mittlere Konzentration von $160,1 \pm 93,3$ Eosinophile/ μ l. Legt man den Normbereich für die eosinophilen Granulozyten im Differentialblutbild mit 80-360 Eosinophile/ μ l laut Referenzlabor dar, so kann man bei RZA-Patienten sogar mit einem gemessenen Mittelwert von $75,1 \pm 75,2$ Eosinophile/ μ l von Fällen mit supprimierten Werten ausgehen.

3.3.1.1. Vergleich der eosinophilen Granulozyten (absolut): Riesenzellarteriitis und

Polymyalgia rheumatica

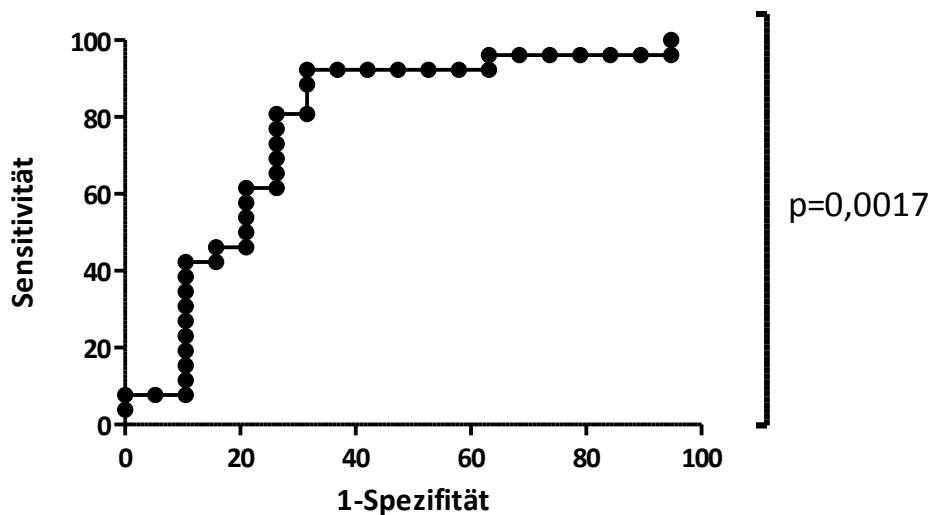
Diagramm 10 zeigt, dass eine signifikant höhere Anzahl an eosinophilen Granulozyten (absolut) bei Patienten mit PMR (n=26; $160,1 \pm 93,3$ Eosinophile/ μ l) im Vergleich zu denen mit RZA (n=19; $75,1 \pm 75,2$ Eosinophile/ μ l) zu finden war (p=0,0017).

Diagramm 10: Vergleich der absoluten Eosinophilen-Mittelwerte: RZA und PMR (untherapierte Patienten)



Legt man den Cut-off-Wert bei 73 Eosinophile (absolut)/ μ l fest, so erreicht die Messung dieses Parameters im Serum laut der durchgeführten ROC-Analyse (Diagramm 11) eine Sensitivität von 92,3 % und eine Spezifität von 68,4 % ($p=0,0017$).

Diagramm 11: ROC-Kurve der absoluten Eosinophilen: RZA und PMR (untherapierte Patienten)



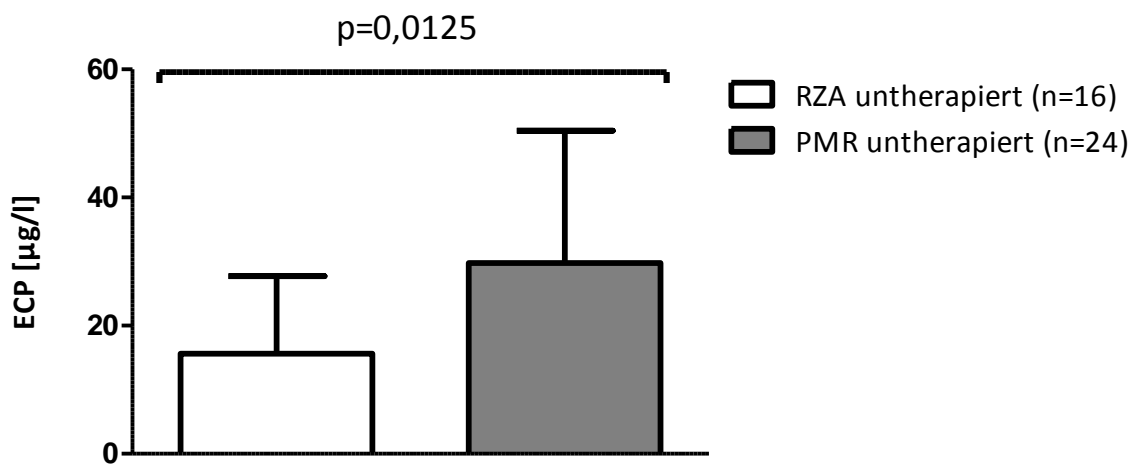
3.3.1.2. Vergleich der eosinophilen Granulozyten (absolut): Riesenzellarteriitis/Polymyalgia rheumatica und Takayasu-Arteriitis

Takayasu-Arteriitis-Patienten ($n=6$; $284,3 \pm 297,3$ Eosinophile/ μ l) zeigten weder gegenüber den RZA ($n=19$; $75,1 \pm 75,2$ Eosinophile/ μ l; $p=0,0918$)- noch gegenüber den PMR ($n=26$; $160,1 \pm 93,3$ Eosinophile/ μ l; $p=0,8658$)-Patienten eine signifikant höhere Anzahl an eosinophilen Granulozyten (absolut)/ μ l.

3.3.2. Eosinophil Cationic Protein

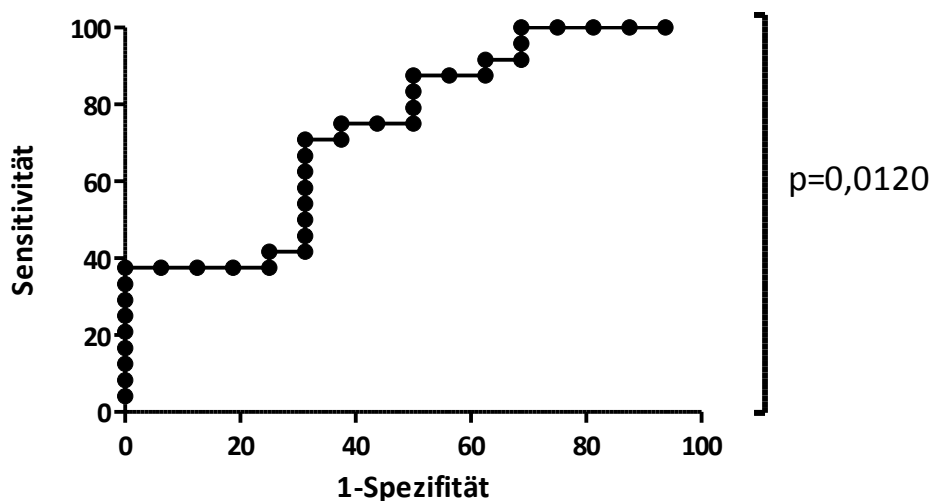
Aufgrund der Feststellung, dass die absolute Zahl der Eosinophilen/ μl im Serum der untherapierten PMR-Patienten signifikant höher war als bei den untherapierten RZA-Patienten, wurde in diesen beiden Gruppen das ECP als Marker der Gewebseosinophilie bestimmt. In Übereinstimmung mit den ermittelten Unterschieden in der Anzahl der eosinophilen Granulozyten ergab auch die ECP-Messung signifikant höhere Werte bei den untherapierten PMR-Patienten ($n=24$: $29,8 \pm 20,7 \mu\text{g/l}$) im Vergleich zu den untherapierten RZA-Patienten ($n=16$: $15,6 \pm 12,1 \mu\text{g/l}$) ($p=0,0125$). Diagramm 12 verdeutlicht diesen Unterschied.

Diagramm 12: Vergleich der ECP-Mittelwerte: RZA und PMR (untherapierte Patienten)



Die ROC-Analyse (Diagramm 13) zeigte, dass ein Cut-off-Wert von 16,05 $\mu\text{g/l}$ mit einer Sensitivität von 75,0 % und einer Spezifität von 62,5 % für die ECP-Messung ideal ist ($p=0,0120$).

Diagramm 13: ROC-Kurve des ECP: RZA und PMR (untherapierte Patienten)



3.3.3. Interleukin-10-Serumkonzentrationen

IL-10, ein TH2-Zytokin, das beim „class switch“ zu IgG4 eine Rolle spielt, wurde im Serum der untherapierten Patienten gemessen (RZA n=19, Takayasu-Arteriitis n=6, PMR n=26, gesunde Kontrollgruppe n=6). In 4 von 19 der RZA-Proben (21,05 %) war IL-10 nachweisbar. Bei den anderen Proben fanden sich Werte unterhalb der Nachweisgrenze ($< 0,39$ pg/ml). In 14 von 26 der PMR-Seren (53,85 %) lag die IL-10-Konzentration über der Nachweisgrenze. In der Gruppe der Takayasu-Arteriitis-Patienten zeigten sich bei der Hälfte der Proben positive IL-10-Spiegel (3 von 6; 50,00 %), während sich in der gesunden Kontrollgruppe 1 der 6 Seren (16,67 %) durch einen Wert über der Nachweisgrenze kennzeichnete. Der Vergleich der mittleren IL-10-Konzentrationen zeigte eine ähnliche Verteilung wie bei den IgG4-Konzentrationen mit den höchsten Werten bei PMR-Patienten. Tabelle 14 zeigt die Mittelwerte, die sich ergeben, wenn man Werte $< 0,39$ pg/ml mit null gleichsetzt.

Tabelle 14: Gegenüberstellung der IL-10-Mittelwerte: RZA, Takayasu-Arteriitis, PMR und gesunde Kontrollgruppe (untherapierte Patienten)

	RZA untherapiert (n=19)	Takayasu- Arteriitis untherapiert (n=6)	PMR untherapiert (n=26)	Gesunde Kontrollgruppe (n=6)
Mittelwert der IL-10-Konzentration in pg/ml \pm SD	0,23 \pm 0,52	0,50 \pm 0,62	0,80 \pm 1,15	0,27 \pm 0,65

3.3.3.1. Interleukin-10-Vergleich: Riesenzellarteriitis und Polymyalgia rheumatica

Wie Diagramm 14 verdeutlicht, zeigten PMR-Patienten (n=26; $0,80 \pm 1,15$ pg/ml) in den Messungen gegenüber den RZA-Patienten (n=19; $0,23 \pm 0,52$ pg/ml) signifikant höhere IL-10-Serumkonzentrationen ($p=0,0333$).

Diagramm 14: Vergleich der IL-10-Mittelwerte: RZA und PMR (untherapierte Patienten)

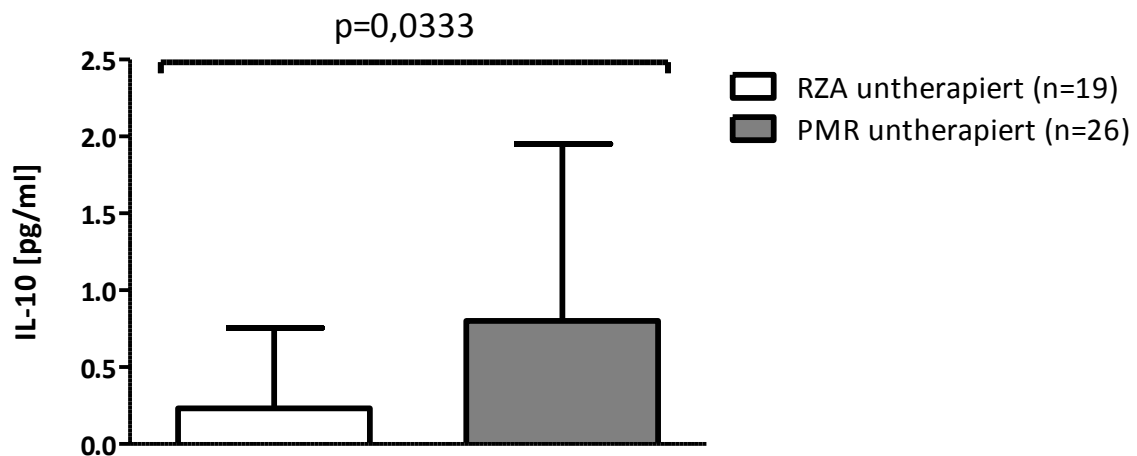
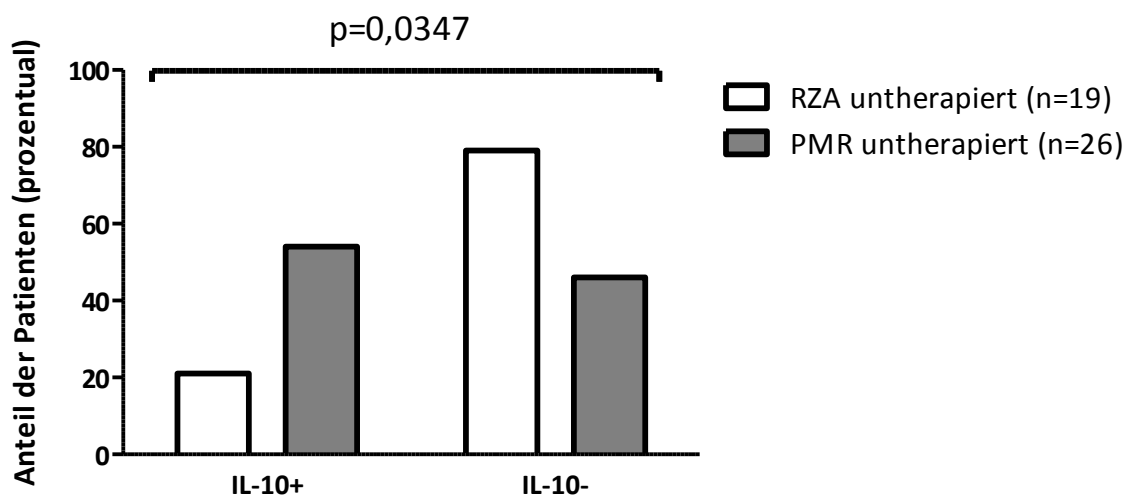


Diagramm 15 zeigt die Zahl der Patienten mit erhöhten IL-10-Serumkonzentrationen in Gegenüberstellung mit den Patienten, deren IL-10-Werte nicht auffällig waren. 4 der 19 RZA-Patienten (21,05 %) zeigten IL-10-Messwerte über der Nachweisgrenze, während dies mit 14 von 26 (53,85 %) bei über der Hälfte der PMR-Patienten der Fall war ($p=0,0347$).

Diagramm 15: Prozentualer Anteil der Patienten oberhalb (IL-10+) und unterhalb (IL-10-) der IL-10-Nachweisgrenze: RZA und PMR (untherapierte Patienten)



3.3.3.2. Interleukin-10-Vergleich: Riesenzellarteriitis/Polymyalgia rheumatica und Takayasu-Arteriitis

Im Serum der Takayasu-Arteriitis-Patienten ($n=6$; $0,50 \pm 0,62$ pg/ml) ließen sich keine signifikant höheren bzw. niedrigeren mittlere IL-10-Konzentrationen nachweisen als in dem der RZA ($n=19$; $0,23 \pm 0,52$ pg/ml; $p=0,1987$)- und PMR ($n=26$; $0,80 \pm 1,15$ pg/ml; $p=0,7023$)-Patienten. In Übereinstimmung mit dieser Feststellung zeigten auch nicht signifikant mehr Takayasu-Arteriitis Patienten (3 von 6; 50,00 %) als RZA (4 von 19; 21,05 %; $p=0,2985$)- und PMR (14 von 26; 53,85 %; $p=1,0000$)-Patienten IL-10-Konzentrationen über 0,39 pg/ml.

3.3.3.3. Interleukin-10-Vergleich: Riesenzellarteriitis/Takayasu-Arteriitis/Polymyalgia rheumatica und gesunde Kontrollgruppe

Der Vergleich der IL-10-Mittelwerte zwischen der gesunden Kontrollgruppe ($n=6$; $0,27 \pm 0,65$ pg/ml) und den RZA ($n=19$; $0,23 \pm 0,52$ pg/ml; $p=0,9275$)-, Takayasu-Arteriitis ($n=6$; $0,50 \pm 0,62$ pg/ml; $p=0,4460$)-, PMR ($n=26$; $0,80 \pm 1,15$ pg/ml; $p=0,1499$)-Patienten offenbarte keine signifikanten Unterschiede. Auch die Unterteilung der Gruppen in Personen mit IL-10-Konzentrationen $>$ bzw. $<$ 0,39 pg/ml erbrachte keine signifikanten Unterschiede zwischen der gesunden Kontrollgruppe (1 von 6; 16,67 %) und den RZA (4 von 19; 21,05 %; $p=1,0000$)-, Takayasu-Arteriitis (3 von 6; 50,00 %; $p=0,3030$)-, PMR (14 von 26; 53,85 %; $p=0,1779$)-Patienten.

3.3.4. Interleukin-5-Serumkonzentrationen

IL-5, ein TH2-Zytokin, das ein Eosinophilen-stimulierender Faktor ist, konnte in keinem der gemessenen Seren nachgewiesen werden (RZA $n=18$, PMR $n=27$, gesunde Kontrollgruppe $n=11$). Diese fehlende IL-5-Antwort bei einer Konzentrationsmessung ohne vorangegangene Stimulation ist in der Literatur bereits für die Eosinophile Granulomatose mit Polyangiitis (EGPA, Churg-Strauss-Syndrom) beschrieben (Kiene et al., 2001).

3.3.5. Interleukin-4-Serumkonzentrationen

IL-4, ein TH2-Zytokin mit inhibierender Wirkung auf die T-Helferzelle-1 (TH1)-Zellen, wurde im Serum der untherapierten Patienten gemessen (RZA $n=18$, PMR $n=26$, gesunde Kontrollgruppe $n=11$). Bei 4 der 18 RZA-Proben war IL-4 nachweisbar (22,22 %). Bei den anderen 14 Proben fanden sich Werte unterhalb der Nachweisgrenze. In 15 von 26 PMR-Seren lag die IL-4-Konzentration über der Nachweisgrenze (57,69 %). Von den 11 gemessenen Seren der gesunden Kontrollgruppe kennzeichneten sich 2 Seren durch messbares IL-4 (18,18 %). Setzt man Werte unterhalb der Nachweisgrenze mit null gleich, dann ergeben sich die in Tabelle 15 dargestellten Mittelwerte.

In Einklang mit der IL-10-Messung konnten die höchsten IL-4-Konzentrationen in PMR-Seren gemessen werden. RZA-Patienten und Personen der gesunden Kontrollgruppe zeigten niedrigere Messwerte.

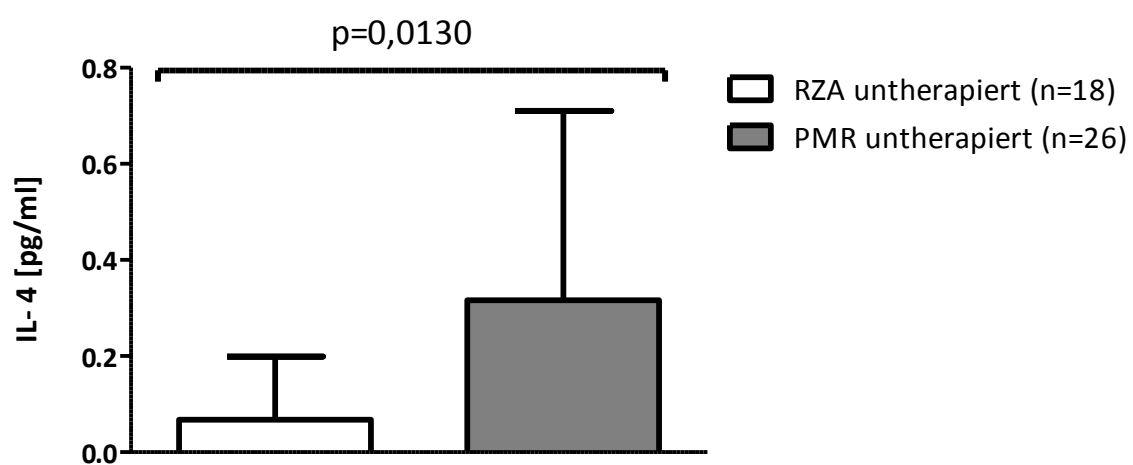
Tabelle 15: Gegenüberstellung der IL-4- Mittelwerte: RZA, PMR und gesunde Kontrollgruppe (untherapierte Patienten)

	RZA untherapiert (n=18)	PMR untherapiert (n=26)	Gesunde Kontrollgruppe (n=11)
Mittelwert des IL-4 in pg/ml \pm SD	0,07 \pm 0,13	0,32 \pm 0,39	0,03 \pm 0,06

3.3.5.1. Interleukin-4-Vergleich: Riesenzellerarthritis und Polymyalgia rheumatica

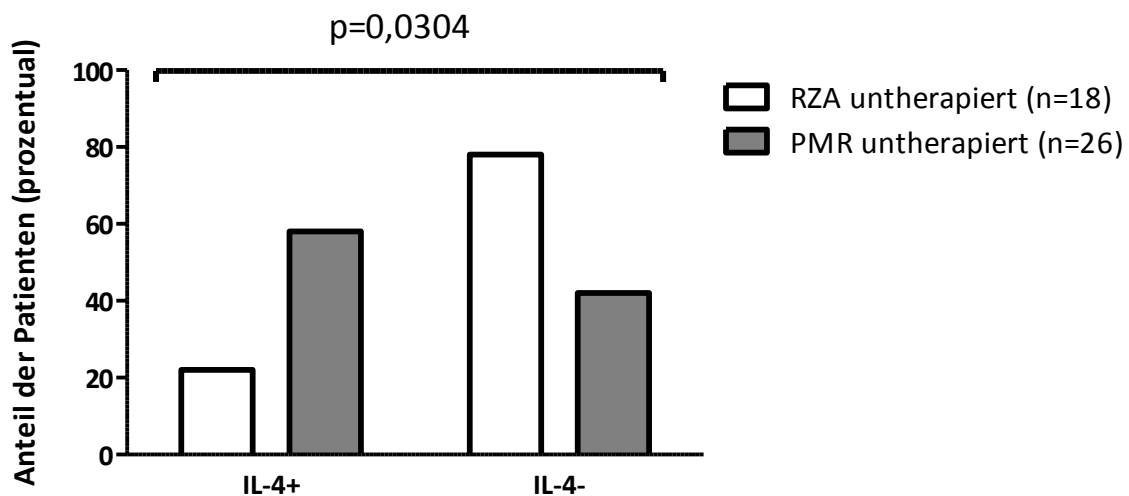
Die IL-4-Konzentration im Serum der PMR-Patienten (n=26; 0,32 \pm 0,39 pg/ml) lag deutlich über derjenigen der RZA-Patienten (n=18; 0,07 \pm 0,13 pg/ml). Der ermittelte Unterschied ist statistisch signifikant (p=0,0130) und in Diagramm 16 dargestellt.

Diagramm 16: IL-4-Mittelwerte: RZA und PMR (untherapierte Patienten)



Signifikant mehr PMR (15 von 26; 57,69 %)- als RZA (4 von 18; 22,22 %)-Patienten zeigten im Serum messbares IL-4 (p=0,0304). Eine Gegenüberstellung erfolgt in Diagramm 17.

Diagramm 17: Prozentualer Anteil der Patienten oberhalb (IL-4+) und unterhalb (IL-4-) der IL-4-Nachweisgrenze: RZA und PMR (untherapierte Patienten)



3.3.5.2. Interleukin-4-Vergleich: Riesenzellarteriitis/Polymyalgia rheumatica und gesunde Kontrollgruppe

Sowohl die RZA-Patienten (n=18; $0,07 \pm 0,13$ pg/ml) als auch die Personen der gesunden Kontrollgruppe (n=11; $0,03 \pm 0,06$ pg/ml) wiesen im Serum sehr niedrige mittlere IL-4-Konzentrationen auf, sodass statistisch kein signifikanter Unterschied ermittelbar war ($p=0,6341$). In 4 der insgesamt 18 RZA-Seren (22,22 %) konnte IL-4 gemessen werden, während dies bei 2 der 11 Proben aus der gesunden Kontrollgruppe (18,18 %) möglich war ($p=1,0000$).

Im Gegensatz dazu wiesen die PMR-Patienten (n=26) mit einem Mittelwert von $0,32 \pm 0,39$ pg/ml signifikant höhere IL-4-Konzentrationen auf als die gesunden Personen [$(0,03 \pm 0,06$ pg/ml) ($p=0,0101$)]. Dazu passend zeigten auch signifikant mehr PMR-Patienten (15 von 26; 57,69 %) als Personen aus der gesunden Kontrollgruppe (2 von 11; 18,18 %) messbares IL-4 ($p=0,0365$).

3.4. Korrelationen

Außer der schon bekannten negativen Korrelation zwischen der BSG in mm/h und dem Hämoglobin (Hb) in g/dl (je höher die BSG, desto niedriger der Hb-Wert) führte die lineare Regressionsanalyse zu keinen neuen Erkenntnissen. Es zeigte sich keine Korrelation zwischen der Zahl der eosinophilen Granulozyten und dem ECP, was darauf hindeutet, dass das ECP nicht nur ein Surrogatmarker für den Eosinophilen-Spiegel im Blut ist.

Die Ergebnisse der linearen Regressionsanalyse sind im Anhang zu finden unter „7.3. Korrelationen“ ab Seite 76.

4. Diskussion

4.1. Immunglobulin G4 zur Differentialdiagnose zwischen der Immunglobulin G4-assoziierten chronischen Periaortitis und der Riesenzellarteriitis

Bildgebend kann die Differentialdiagnose, CP oder RZA, den Kliniker vor große Herausforderungen stellen, wie die MR-Angiographien (Abbildungen 1-3) eingangs zeigen. Zwar gibt es für die Erkrankungen bestimmte Charakteristika, die die Diagnosestellung erleichtern, doch ein Abweichen vom typischen Befallsmuster und Symptomkomplex ist in der Literatur vielfach beschrieben. Untersuchungen, ob eine PET die Abgrenzung erbringen kann, verdeutlichten einmal mehr die großen Überschneidungen. Die hohe vaskuläre ¹⁸F-Fluordesoxyglucose (FDG)-Aufnahme in der PET bei Patienten mit CP zeigte in Studien große Ähnlichkeit zu derjenigen bei RZA sowie bei Takayasu-Arteriitis (Blockmans, 2003; Wenger et al., 2003) und legte die Vermutung nahe, dass diese Gefäßbeteiligung eine Vaskulitis repräsentieren könnte. Daher wurde die Frage aufgeworfen, die CP ebenso in die Gruppe der Großgefäßvaskulitiden aufzunehmen (Salvarani et al., 2005). Darüber hinaus werden immer wieder Patienten vorstellig, die sowohl eine CP als auch eine RZA zeigen (Schultz et al., 2003, p. 2; Tölle et al., 2012; Protosaltis et al., 2014). Die Ausbildung von Aneurysmata, durch die sich die CP häufig manifestiert, stellt auch eine Komplikation der Aortitis bei RZA dar (Parums, 1990; Nuenninghoff et al., 2003b; Salvarani et al., 2005; García-Martínez et al., 2008). Doch nicht nur Überschneidungen seitens der Bildgebung erschweren die Differenzierung; auch klinisch und laborchemisch sind die CP und RZA durch unspezifische Zeichen der Inflammation (z.B. Fieber, Fatigue, Gewichtsverlust) und eine erhöhte Entzündungsserologie (CRP, BSG) gekennzeichnet (Huston et al., 1978; Calamia and Hunder, 1981; Salvarani et al., 2005). Ein serologischer Parameter zur Trennung beider Krankheiten fehlt bislang, weshalb bei untypischen Befunden und Lokalisationen bisher nur eine aufwändige und in vielen Fällen schwierig durchführbare histologische Untersuchung die Aufklärung erbringen konnte. Obwohl es auch hier beispielsweise die Gemeinsamkeit einer ausgeprägten Inflammation der Adventitia mit Befall der Vasa vasorum (Cid et al., 1998) gibt, zeichnen sich die RZA und die CP durch unterschiedliche histologische Muster aus, die eine Abgrenzung ermöglichen, wie bereits in der Einleitung erläutert wurde und wie die Abbildungen 5-8 verdeutlichen.

Abbildung 5 (links) und 6 (rechts): Histologie bei RZA, Hämatoxylin-Eosin (HE)-Färbung
(Cavazza et al., 2014)

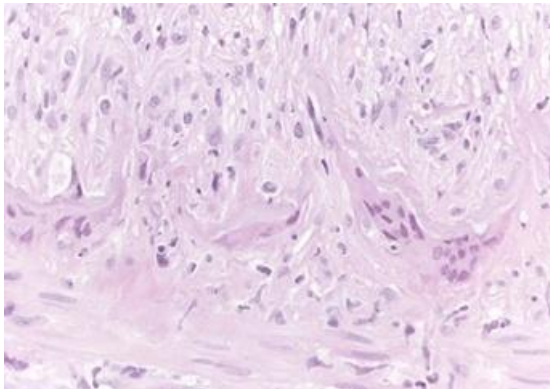


Abbildung 5: Epitheloide Makrophagen und Riesenzellen zerstören Elemente der Lamina elastica interna

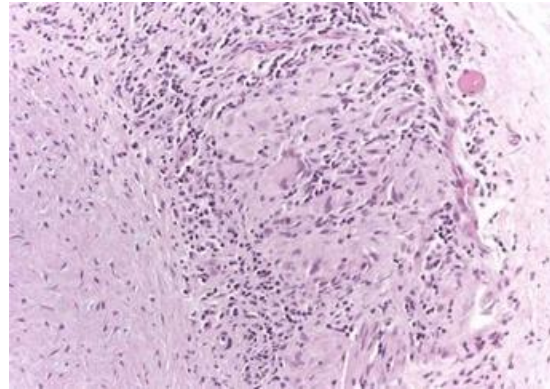


Abbildung 6: Granulome und Neoangiogenese in der Gefäßwand

Abbildung 7 (links) und 8 (rechts): Histologie bei CP, HE-Färbung
(Vaglio et al., 2006)

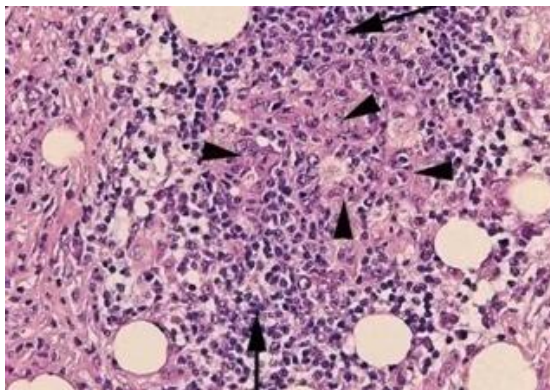


Abbildung 7: Perivaskuläres entzündliches Aggregat, hauptsächlich bestehend aus mononukleären Zellen und verstreuten Eosinophilen (Pfeilspitzen=kleine retroperitoneale Gefäße; Pfeile=mononukleäre Zellen)

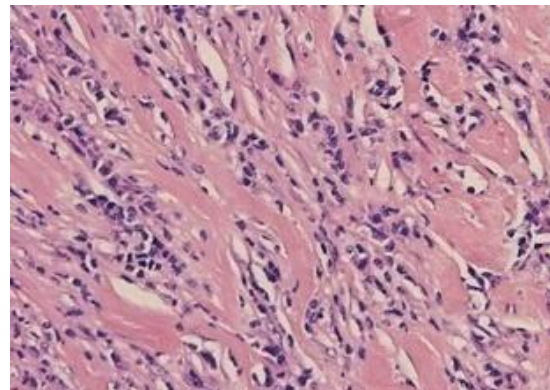


Abbildung 8: Diffuses mononukleäres Zell- und Entzündungsinfiltrat, durchsetzt von zahlreichen dichten Kollagenbündeln

Die Messung der IgG4-Serumkonzentration könnte in einigen Fällen, unter Umgehung einer Biopsieentnahme, ein wichtiger Indikator werden. Da wir bei den RZA-Patienten in den von uns durchgeführten Versuchen im Mittel keine erhöhten IgG4-Serumkonzentrationen fanden und die Mehrzahl der Patienten (92,68 %) Werte unterhalb des Cut-offs zeigte, spricht das Auftreten

erhöhter Konzentrationen von IgG4 im Rahmen einer Aortitis gegen das Vorliegen einer RZA und für das Vorliegen einer CP, die in 50 % IgG4-assoziiert ist (Zen et al., 2009; Khosroshahi et al., 2013). Die Messung erhöhter IgG4-Werte könnte also in Zukunft bei schwierig einzuordnender Bildgebung und Klinik hilfreich sein, RZA und CP voneinander zu differenzieren. Ist jedoch keine erhöhte IgG4-Serumkonzentration messbar, dann ist eine CP nicht ausgeschlossen, da eine IgG4-Assoziation in 50 % der Fälle, vermutlich aufgrund einer anderen Pathogenese, fehlt. Eine frühzeitige Diagnose ist von großer Bedeutung. Bei erhöhter IgG4-Konzentration oberhalb des Cut-offs müsste man unter dem Verdacht einer CP aufgrund der Zugehörigkeit zur IgG4-RD nach weiteren Organmanifestationen (u.a. Pankreas, Gallenwege, Speicheldrüsen, Schilddrüse, Lunge, Nieren) suchen, bei Komplikationen Operationen wie z.B. den Einsatz von Ureterschienen (Fry et al., 2008) erwägen und im Falle einer Symptompersistenz unter Glucocorticoidtherapie stünde mit Rituximab ein vielversprechendes Therapeutikum zur Verfügung (Khosroshahi et al., 2010; Maritati et al., 2012; Sedyshev et al., 2013), während eine RZA in der Regel mit Glucocorticoiden und anderen Immunsuppressiva ausreichend gut behandelbar ist (Dasgupta et al., 2010a). Neuerdings kommt zudem der Interleukin-6-Antagonist Tocilizumab bei der Therapie der RZA zum Einsatz (Evans et al., 2016).

Eine geringe Anzahl von RZA-Patienten (7 %) zeigte in unseren Versuchen IgG4-Konzentrationen oberhalb des Cut-offs. Diese Häufigkeit entspricht dem Vorkommen einer IgG4-Erhöhung in gesunden Populationen, denn wie Voruntersuchungen offenbarten, finden sich bei gesunden Kontrollen in 3-7 % IgG4-Konzentrationen oberhalb des Cut-offs (Oseini et al., 2011; Sadler et al., 2011). Auch wir konnten in unserer gesunden Kontrollgruppe in 7 % der Fälle erhöhte IgG4-Serumkonzentrationen messen. Nichts desto trotz sollte die Messung erhöhter IgG4-Werte in Verbindung mit dem Verdacht auf eine inflammatorische Erkrankung der Aorta in einem solchen Fall gefolgt sein von weiteren Untersuchungen, weil die Beteiligung der Aorta im Rahmen der IgG4-RD nicht immer nur die Adventitia und das periaortale Gewebe der Aorta abdominalis einbezieht, sondern, wie die RZA, die Intima und Media der Aorta thoracica im Sinne einer Aortitis befallen kann (Stone et al., 2009, 2010; Kasashima et al., 2010). Diese Erkenntnisse stammen in der Mehrzahl von Patienten mit thorakaler Aortitis, bei denen eine Operation der Aorta ascendens nötig war. Die histopathologische Untersuchung der Proben zeigte vielfach eine granulomatöse Entzündung mit oder ohne Riesenzellen, sodass diese Fälle nicht zu unterscheiden waren von einer Aortitis wie sie bei der RZA auftritt (Rojo-Leyva et al., 2000; Miller et al., 2006). Das wachsende Verständnis der IgG4-RD als klinisches Krankheitssyndrom und die Feststellung, dass die IgG4-RD eine Reihe anderer Ursachen für eine Aortitis, im

Besonderen die RZA und eine isolierte Riesenzell-Aortitis, imitieren kann, unterstreicht die Wichtigkeit, diese Diagnose bei Patienten mit verschiedenen Typen der idiopathischen Aortitis, nicht nur bei denen mit der typischen Präsentation einer CP, in Betracht zu ziehen (Stone et al., 2010). Durch frühzeitige Einordnung der Aortitis als Manifestation einer systemischen Krankheit, wie sie die IgG4-RD darstellt, kann unter Einsatz einer adäquaten Therapie und entsprechender Langzeitbeobachtung dem Progress mit einem weiteren Organbefall vorgebeugt werden.

4.2. Immunglobulin G4 zur Differentialdiagnose zwischen der Riesenzellarteriitis und der Polymyalgia rheumatica

Die Beziehung zwischen PMR und RZA ist seit den 1960er-Jahren weitläufig bekannt als vermehrt auffiel, dass das klinische Bild der PMR oft vor, während oder nach dem Beginn einer RZA auftritt (Paulley and Hughes, 1960; Wilske and Healey, 1967). Seitdem wird diskutiert, ob die PMR und die RZA die gleiche Krankheit mit unterschiedlicher Ausprägung oder zwei verschiedene aber häufig überlappende Erkrankungen sind (Cantini et al., 2004; Gonzalez-Gay, 2004). Neuere Ergebnisse zur Überlappung beider Krankheiten auf der Grundlage der Biopsie der Arteria temporalis und der Untersuchung mittels PET verdeutlichen die Aktualität dieser Frage.

Da sich das Therapiemanagement der isolierten PMR von dem der RZA unterscheidet und die zusätzliche Entwicklung einer RZA auf der Grundlage einer PMR viele Komplikationen mit sich bringen kann, wäre es wünschenswert, einen serologischen Parameter zur Verfügung zu haben, der eine Abgrenzung ermöglicht. Verschiedene Biomarker wurden bereits erprobt. Die Entzündungsmarker CRP und BSG sind klassischerweise erhöht, wobei immer auch einige Patienten normale Werte zeigen. Daher ist die Messung dieser Serumwerte sowohl bei der RZA als auch bei der PMR Bestandteil der entsprechenden Klassifikationskriterien (Hunder et al., 1990; Dasgupta et al., 2012). In einer Kohorte mit 764 RZA- und PMR-Patienten betrug die Sensitivität einer erhöhten BSG 84 %; die Sensitivität erhöhter CRP-Level war mit 86 % etwas höher. Die Spezifität dieser Marker betrug nur 30 %. 4 % der Patienten mit gesicherter RZA zeigten zur Diagnosestellung normale CRP- und BSG-Werte (Kermani et al., 2012). Auch in unseren RZA- und PMR-Gruppen konnten uniform erhöhte CRP- und BSG-Level festgestellt werden. Die Messung dieser Akut-Phase-Mediatoren ist hilfreich bei der diagnostischen Evaluation und im Langzeitmonitoring. Sie ermöglicht aber keine Differenzierung zwischen Patienten mit isolierter PMR und denen mit RZA und sollte nicht die einzige Indikation für eine immunsuppressive Therapie darstellen. Als spezifischer Biomarker wurde zudem das IL-6, als hauptsächlicher Induktor der CRP-Produktion, diskutiert. Die IL-6-Level sind

charakteristischerweise bei untherapierten RZA- und PMR-Patienten erhöht, unter Therapie vorübergehend supprimiert und bei Patienten mit chronischen Krankheiten oft höher als normal. Es gibt keine Evidenz, dass die Messung der IL-6-Level der CRP-Konzentrationsmessung überlegen ist, sodass die Messung für die klinische Routine nicht empfohlen wird (Dasgupta and Panayi, 1990; Weyand et al., 2000). Bei einer weiteren Studie an 64 RZA-Patienten, 47 PMR-Patienten und 31 Patienten mit RZA und PMR entdeckte man in 92 % der Fälle Autoantikörper gegen Ferritin. Dabei konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden (Baerlecken et al., 2012). Diese Ergebnisse bedürfen noch einer Bestätigung im Zuge einer prospektiven kontrollierten Studie, lassen allerdings vermuten, dass auch die Messung der IgG-Ferritin-Antikörper im Serum keine differentialdiagnostische Abgrenzung zwischen reiner PMR und RZA ermöglicht.

Bei dieser Differentialdiagnose könnte zukünftig die Messung der IgG4-Serumkonzentration hilfreich sein. Da signifikant mehr RZA-Patienten (mit und ohne PMR) als reine PMR-Patienten IgG4-Konzentrationen unterhalb des Cut-offs zeigten, spricht bei unbehandelten Patienten eine erhöhte IgG4-Konzentration für das Vorliegen einer isolierten PMR, während erniedrigte Werte eher für eine RZA sprechen. Die Gegenüberstellung der Patienten mit isolierter PMR mit den PMR-Patienten, die zusätzlich eine RZA zeigten, ergab in der reinen PMR-Gruppe nicht nur eine signifikant höhere Patientenzahl mit IgG4-Konzentrationen über 1400 µg/ml, sondern auch signifikant höhere mittlere IgG4-Konzentrationen im Serum. IgG4 könnte also diagnostisch hilfreich sein, um Patienten mit einem erhöhten Risiko für eine RZA gegenüber den Patienten mit isolierter PMR abzugrenzen, denn, wie unsere Untersuchungen ermittelt haben, zeigen Patienten mit IgG4-Werten unterhalb des Cut-offs auf der Grundlage einer PMR gegenüber den Patienten mit IgG4-Werten oberhalb des Cut-offs ein fast sechsfach erhöhtes Risiko, eine RZA zu entwickeln. Diese Feststellung und ihre Wichtigkeit im klinischen Umgang sind im Einklang zu sehen mit der Beobachtung aus der Literatur, dass die PMR in vielen Fällen das vorangehende Syndrom in Patienten darstellt, die später eine typische kraniale Manifestation der RZA entwickeln. Gerade diese kraniale Form ist aufgrund der oft akuten Gefahr des Visusverlustes besonders gefährlich und muss umgehend behandelt werden (González-Gay et al., 1998). Im Schnitt traten die RZA-Manifestationen bei den beschriebenen Patienten mit initialer Diagnosestellung einer reinen PMR innerhalb der ersten zwei Jahre nach Auftreten der ersten polymyalgischen Symptome auf (Rynes et al., 1977; Papadakis and Schwartz, 1986). Das IgG4 könnte in Zukunft der Parameter sein, der frühzeitig ein erhöhtes Risiko für eine RZA anzeigt, was die Therapiesteuerung und Planung der Langzeitbehandlung erleichtern würde, denn die

RZA ist im Vergleich zur reinen PMR aufgrund der Gefahr von Stenosen (Aiello et al., 1993), Dissektionen und Aneurysmata (Miller et al., 2006) eine deutlich komplikationsreichere Erkrankung, die einer intensiveren Therapie bedarf. In der Regel wird die PMR mit einer Initialdosis von 15-20 mg Glucocorticoiden pro Tag therapiert, während für die RZA unterschiedlichen Empfehlungen nach mit 40 mg pro Tag oder Dosen von 1 mg pro kg Körpergewicht und pro Tag ein deutlich höherer Bedarf besteht. Bei der RZA wird häufig auch eine weitere immunsuppressive Therapie mit Methotrexat angewandt (Mahr et al., 2007).

Der Vorteil von IgG4 gegenüber anderen Parametern liegt in seiner Halbwertszeit. Es besitzt die längste Serumhalbwertszeit unter allen Immunglobulin-Isotypen, weshalb auch nach kurzer Therapiedauer eine Messung noch wichtige Hinweise liefern kann (Schroeder and Cavacini, 2010). Unsere Ergebnisse unterstreichen dies, denn therapierte RZA- und Takayasu-Arteriitis-Patienten zeigten beim Vergleich mit untherapierten Patienten keine signifikant niedrigeren oder höheren mittlere IgG4-Serumkonzentrationen. Obwohl die IgG4-Konzentration mit Beginn einer Therapie niedriger wird, bleibt sie bei der Mehrzahl der Patienten, die vorher erhöhte Werte zeigten, oberhalb des Normbereiches (T. Kamisawa et al., 2009; Sah and Chari, 2011).

4.3. Pathogenese bei der Riesenzellarteriitis und der Polymyalgia rheumatica

Aufgrund unserer Ergebnisse ist es, wie auch andere Arbeiten nahelegen, wahrscheinlich, dass die PMR und die RZA zwei verschiedene Phasen der gleichen Krankheit darstellen (Bengtsson and Malmvall, 1981; Boesen and Sørensen, 1987). Es kann vermutet werden, dass die PMR die Basis eines Krankheitssyndroms repräsentiert. In einem Teil der Fälle kommt es zur Kompensation, während es in dem anderen Teil zum Umschalten in der Immunantwort mit der Folge einer RZA kommt. Vermittelt durch Mediatoren wie Zytokine und Antikörper findet dieser Immunswitch auf Zellebene statt, wobei vor allem die T-Helferzellen (TH1 und TH2) involviert sind. Bezüglich der T-Helferzellen gibt es das Konzept der TH1/TH2-Immunbalance (Abbildung 9). Zehn Jahre nachdem die T-Zelllinien mit ihren unterschiedlichen Zytokinsekretionsmustern und Funktionen in den 1980er-Jahren bei Mäusen entdeckt wurden, übertrug man dieses Konzept, das seither einen wichtigen Forschungsfokus darstellt, auch auf die Immunität des Menschen (Mosmann et al., 1986; Mosmann and Coffman, 1989). Es schreibt den TH1-Zellen eine zellvermittelte Immunantwort, Zytokinsekretion und Zytolyse, vermittelt überwiegend durch IL-2, IL-12 und Interferon γ (IFN γ), zu. Die TH2-Zellen dagegen bewirken durch die Ausschüttung von IL-4, IL-5 und IL-10 eine Initiierung der humoralen Immunantwort mit B-Zellaktivierung und Antikörperproduktion (vor allem IgE und IgG4). Es findet zudem eine Aktivierung der eosinophilen Granulozyten statt. TH1- und TH2-Zellen inhibieren sich gegenseitig. Der

TH1-Pathway wird als der aggressivere Weg angesehen, der bei einer Überaktivierung multiple Organschäden und autoimmune Reaktionen verursachen kann, während eine Überstimulation des TH2-Weges mit Allergien und IgE-vermittelten Erkrankungen in Verbindung steht (Singh et al., 1999).

Abbildung 9: TH1/TH2- Immunbalance (modifiziert nach (Kidd, 2003))

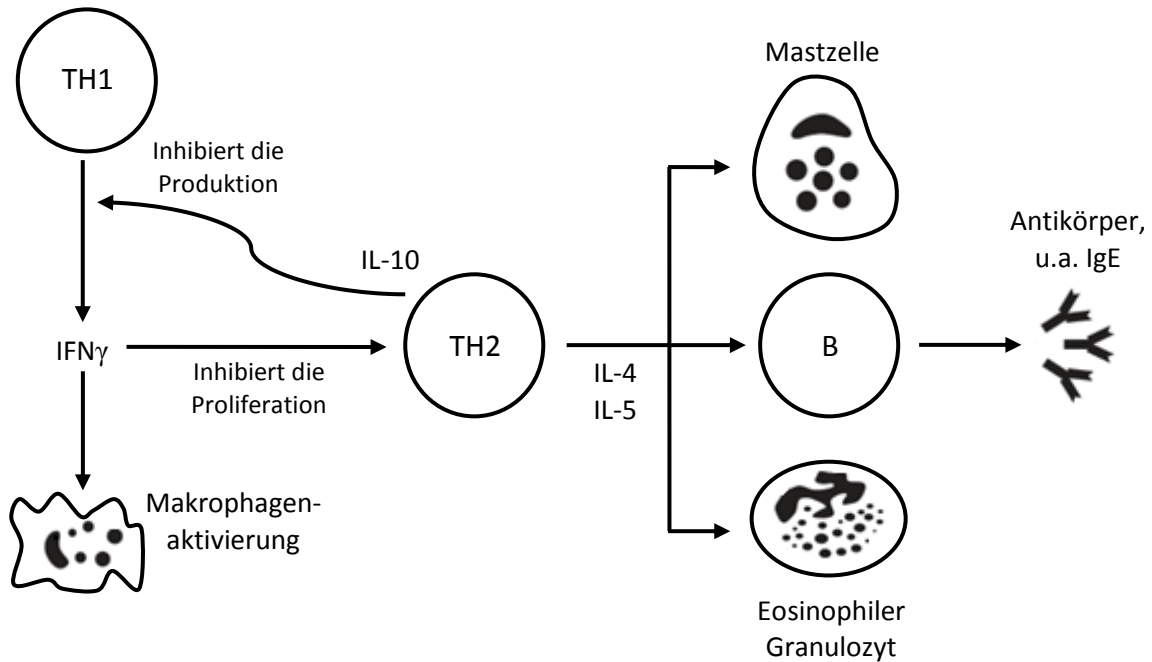


Abbildung 9: TH1-Zellen führen zu einer Makrophagenaktivierung, vermittelt durch IFN γ . Die TH2-Zellen dagegen bewirken durch die Ausschüttung von IL-4 und IL-5 eine Initiierung der humoralen Immunantwort mit B-Zellaktivierung und Antikörperproduktion (vor allem IgE und IgG4). Es findet zudem eine Aktivierung der eosinophilen Granulozyten und Mastzellen statt. TH1- und TH2-Zellen inhibieren sich gegenseitig. TH1-Zellen hemmen über die IFN γ -Sekretion die Proliferation von TH2-Zellen, während diese wiederum durch Ausschüttung von IL-10 die Produktion von IFN γ herabsetzen.

IL-4 ist ein Zytokin mit antiinflammatorischen Eigenschaften, das hauptsächlich in TH2-Zellen produziert wird und naive CD4⁺-T-Zellen (TH0) zu TH2-Zellen differenziert. Es verringert die körpereigene Produktion von TH1-Zellen und Makrophagen sowie von IFN γ und IL-12. Zudem stimuliert IL-4 aktivierte B-Zellen und führt zu einem Immunglobulin-Klassenwechsel hin zu IgE und IgG4 (Paul, 1991). Wie IL-4 agiert auch IL-10 durch Hemmung der Makrophagenfunktion als antiinflammatorisches Zytokin, sodass überschießende Entzündungsreaktionen verhindert werden. Es wird neben regulatorischen T-Zellen (Treg) vor allem von TH2-Zellen gebildet und hemmt die Bildung von Zytokinen der TH1-Antwort (Akdis et al., 1998; Grütz, 2005).

Die Tatsache, dass IL-10 eine wichtige Rolle in der Pathogenese der RZA und PMR spielt, wurde durch genetische Studien bekräftigt. In diesen fand man heraus, dass Polymorphismen des IL-10-Gens zu einer Down-Regulation der IL-10-Synthese führen können. Aufgrund der fehlenden TH1-Inhibition geht dies mit einer erhöhten Suszeptibilität für die RZA einher (Boiardi et al., 2006). IL-10-Genpolymorphismen, die zu einer verstärkten Sekretion von IL-10 führen, wurden beispielsweise bei der EGPA gefunden (Wieczorek et al., 2008). Es wäre vorstellbar, dass solche Polymorphismen bei der PMR ohne RZA vermehrt sind.

Unsere Versuche zeigten, dass signifikant mehr PMR- als RZA-Patienten IL-4- und IL-10-Konzentrationen oberhalb der Nachweisgrenze aufwiesen und auch die mittleren Konzentrationen in der PMR-Kohorte signifikant höher waren. Hierzu passte die signifikant höhere ECP-Konzentration als Marker für die Gewebseosinophilie und die signifikant höhere Anzahl an eosinophilen Granulozyten bei den PMR-Patienten, da diese Parameter ebenfalls Mediatoren des TH2-Pathways sind. Diese Verschiebungen scheinen das Ausmaß der TH2-Aktivierung bei isolierter PMR bzw. TH2-Suppression bei RZA sehr gut abzubilden. Die Tatsache, dass auch mehr PMR- als RZA-Patienten erhöhte IgG4-Konzentrationen zeigten, unterstützt die Hypothese, da die IgG4-Produktion, ebenso wie die Produktion von IgE, in erster Linie von TH2-Helferzellen kontrolliert wird. TH2-Zytokine wie IL-4 erhöhen die Produktion sowohl von IgG4 als auch von IgE. Im Gegensatz dazu verschiebt IL-10 das Gleichgewicht zwischen IgG4 und IgE zugunsten des IgG4 (Jeannin et al., 1998). Diese ausgewählte IgG4-Induktion bezeichnet man auch als modifizierte TH2-Antwort (Nirula et al., 2011). Sie wird mit autoimmunen und infektiösen Triggern in Verbindung gebracht (Abbildung 10). Die dominierenden TH2-Zellen sowie die von ihnen aktivierten regulatorischen T-Zellen verursachen eine Überexpression von IL-4/-5/-10/-13 und des Transforming Growth Factors β (TGF β) (Abbildung 10). Die sezernierten Zytokine führen zu einer Eosinophilie, zu erhöhten IgG4- und IgE-Konzentrationen und einer fortschreitenden Fibrose, die charakteristisch ist für die IgG4-RD (Abbildung 10). Aus der massiven Infiltration durch die inflammatorischen Zellen und der Präzipitation von Immunkomplexen resultieren Epithelschäden mit nachfolgenden Organdysfunktionen und ein tumoröses Anschwellen der betroffenen Organe (Abbildung 10).

Abbildung 10: Pathogenetische Mechanismen in IgG4-RD und ihre klinischen Folgen
(modifiziert nach (Stone et al., 2012b))

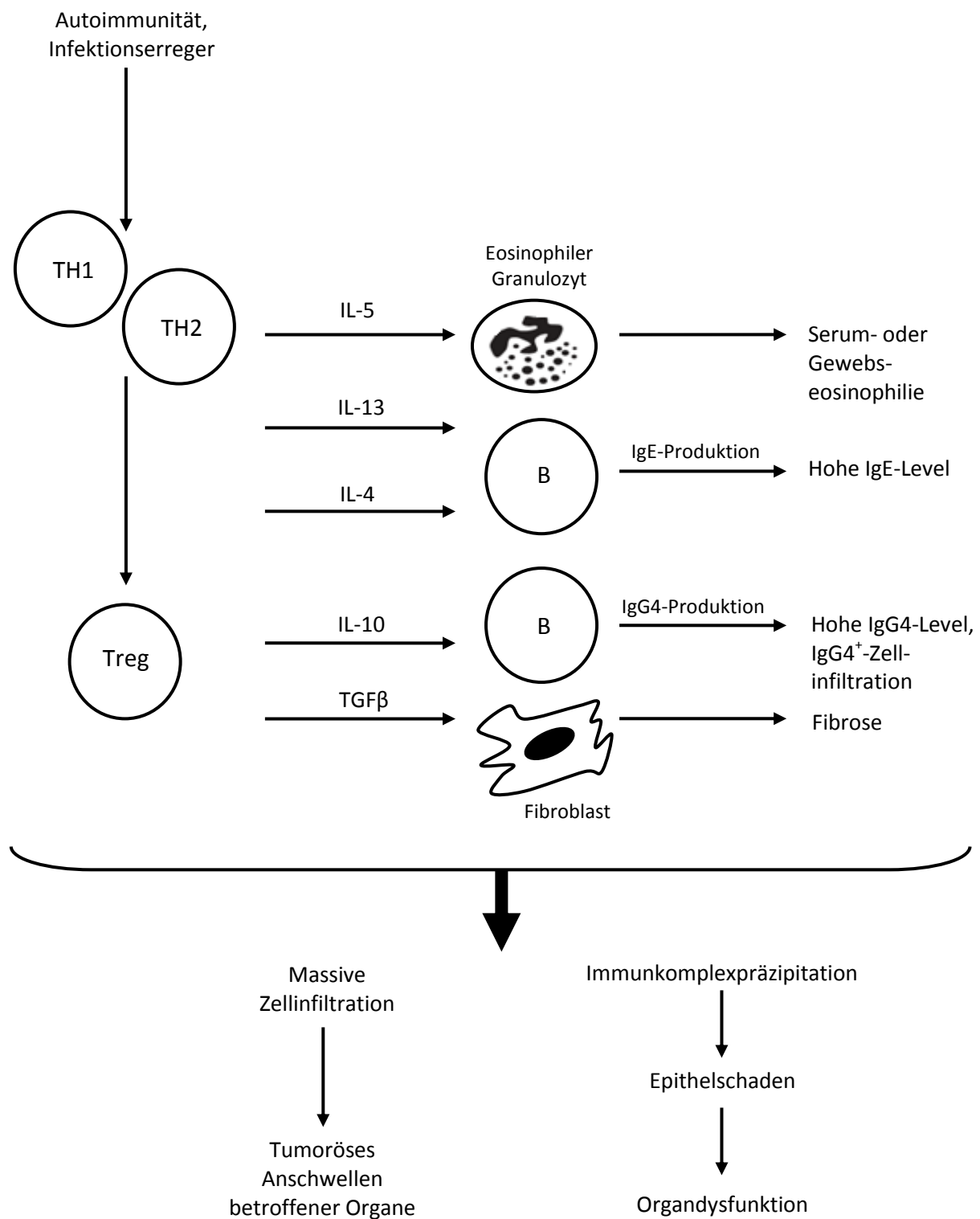


Abbildung 10: Pathogenetisch wird die IgG4-RD mit autoimmunen und infektiösen Triggern in Verbindung gebracht. Die dominierenden TH2-Zellen sowie die von ihnen aktivierten regulatorischen T-Zellen (Treg) verursachen eine Überexpression von IL-4/-5/-10/-13 und des TGFβ. Die sezernierten Zytokine führen zu einer Eosinophilie, zu erhöhten IgG4- und IgE-Konzentrationen und einer fortschreitenden Fibrose, die charakteristisch ist für die IgG4-RD. Aus der massiven Infiltration durch die inflammatorischen Zellen und der Präzipitation von Immunkomplexen resultieren Epithelschäden mit nachfolgenden Organdysfunktionen und ein tumoröses Anschwellen der betroffenen Organe.

Unsere Ergebnisse sind im Einklang zu sehen mit dem bisherigen Stand der Forschung, der bei der RZA von einer dominierenden TH1-Antwort, einhergehend mit einer abgeschwächten Wirkung der TH2-Zellen, ausgeht, während für die isolierte PMR eine TH2-Dominanz angenommen wird. Verdeutlicht werden unsere Annahmen, die sich auf Konzentrationsmessungen im Serum stützen, durch zahlreiche Stimulationsanalysen und histologische Untersuchungen. Studien an T-Zellen aus vaskulitischen Läsionen (Temporalarterienbiopsie) von RZA-Patienten zeigten eine starke IL-2- und IFNγ-Produktion. Bei Patienten mit isolierter PMR fand man keine IFNγ-Produktion, sodass man vermutet, dass IFNγ in die Progression der Arteriitis involviert ist (Weyand et al., 1994; Deng et al., 2010; Ciccio et al., 2011). Weiterhin fand man heraus, dass das Vorhandensein von IFNγ-Messenger-Ribonukleinsäure (mRNA) im Gewebe von RZA-Patienten mit ischämischen Komplikationen und einer Neoangiogenese korreliert (Weyand et al., 1997; Kaiser et al., 1999). Neben IFNγ- und IL-12-produzierenden TH1-Zellen werden die Temporalarterien bei RZA-Patienten zusätzlich durch IL-17-produzierende TH17-Zellen infiltriert. IL-17 kann Makrophagen und andere Zelltypen induzieren, proinflammatorische Zytokine zu produzieren, sodass es für eine Reihe der akuten und konstitutionellen Symptome bei RZA verantwortlich gemacht wird (Samson et al., 2012). Man spricht auch von der IL-17- und der IFNγ-Achse der RZA. Eine Expansion von IL-21, hervorgerufen durch TH1-Zellen, korreliert in aktiver RZA mit einer TH1- und TH17-Zellexpansion, sodass dem IL-21 eine Schlüsselrolle bei der Immunantwort der RZA zugesprochen wird (Terrier et al., 2012). TAB-Untersuchungen an RZA-Patienten zeigten zudem eine Expression des TH1-Zytokins IL-32 (Ciccio et al., 2011). Glucocorticoide inhibieren selektiv die TH17-, aber nicht die TH1-Antwort im peripheren Blut und in vaskulären Läsionen von RZA-Patienten (Deng et al., 2010). Darüber hinaus wurde beobachtet, dass eine persistierende Expression des TH1-assoziierten IL-12p40-Rezeptors und der IFNγ-mRNA im Gewebe mit einer rekurrenden RZA einhergeht. Diese Beobachtungen lassen vermuten, dass die TH1-Antwort

bei der RZA eine wichtige Rolle in der Aufrechterhaltung der Krankheitsaktivität spielt und wirft die Frage auf, inwiefern man durch Blockade dieses Pathways eine aufflammende Vaskulitis verhindern kann (Visvanathan et al., 2011). TH2-Zellen und dazugehörige Zytokine dagegen fehlen charakteristischerweise bei der RZA (Deng et al., 2010).

Neben den T-Zellen spielen die Makrophagen eine entscheidende Rolle bei der Entzündungsreaktion. Sie produzieren proinflammatorische Zytokine wie den Tumornekrosefaktor α (TNF α), IL-1 β und IL-6 sowie freie Sauerstoffradikale, die einen Gewebeschaden verursachen können (Hernández-Rodríguez et al., 2004). Aus der Ausschüttung dieser inflammatorischen Mediatoren resultiert eine systemische Entzündungsreaktion, die sowohl für die RZA als auch für die PMR charakteristisch ist (Wagner et al., 1994). IL-6 hat zusätzlich proangiogenetische Effekte, die den stenosierenden Eigenschaften des IFN γ entgegenwirken. Das erklärt, weshalb RZA-Patienten mit ischämischen Komplikationen geringere zirkulierende IL-6-Konzentrationen und weniger IL-6-mRNA im Gewebe aufweisen (Hernández-Rodríguez et al., 2003).

Studien an PMR-Patienten verdeutlichten, dass die dominierende IL-6-Ausschüttung (Straub et al., 2000) hauptsächlich im entzündeten Gewebe stattfindet und unter Glucocorticoid-Therapie stark rückläufig ist. Es war bei den PMR-Patienten nicht möglich, im peripheren Kompartiment eine Tendenz zur TH1-Antwort zu demonstrieren. Die Serumkonzentrationen von IL-1 β und TNF α (Roche et al., 1993) waren bei den PMR-Patienten nicht erhöht, während das TH2-Zytokin IL-10, wie auch in unseren Versuchen, erhöhte Konzentrationen aufwies. In Übereinstimmung hiermit sezernierten die T-Lymphozyten der Patienten unter Stimulation weniger IFN γ und IL-12 als die gesunde Kontrollgruppe. Eine schwache IL-4-Sekretion in T-Lymphozyten war nachweisbar. Zirkulierende Monozyten produzierten bei Stimulation nicht vermehrt proinflammatorische Zytokine (TNF α , IL-1 β , IL-6) (Alvarez-Rodríguez et al., 2010).

In Zusammenschau unserer Befunde und der Ergebnisse zahlreicher Studien scheint es bei der RZA nicht nur zu einer Aktivierung einer TH1-Antwort, sondern zusätzlich, uniformer als bei der reinen PMR, zu einer Suppression der TH2-Immunantwort zu kommen (Abbildung 11). Es sieht so aus, als könne man dies mit relativ einfachen Methoden laborchemisch nachweisen, denn die Bestimmung der eosinophilen Granulozyten gehört zum Standard und IgG4 ist leicht bestimmbar, weil es ein sehr stabiles Molekül ist.

Abbildung 11: Gestörte TH1/TH2-Immunbalance bei RZA und PMR

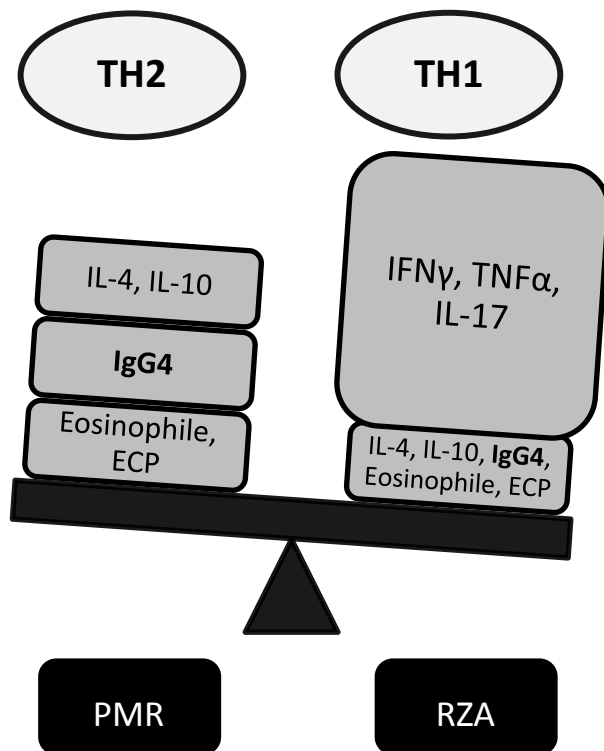


Abbildung 11: **Hypothese:** Die PMR stellt die Basis der Krankheit dar. Durch Überwiegen des TH2-Weges, der u.a. durch IL-4 und IL-10 dominiert wird und zu einer Erhöhung der IgG4-Konzentration sowie zur Eosinophilie führt, kommt es zu einer Kompensation des Syndroms ohne Ausbildung vaskulitischer Läsionen. Wird jedoch der TH1-Pathway, u.a. vermittelt durch IFN γ , TNF α und IL-17, vermehrt aktiviert und die TH2-Antwort dadurch supprimiert, entwickelt sich zusätzlich eine RZA.

4.4. Limitationen der Untersuchungen

Die Experimente fanden mit statistisch betrachtet kleinen Fallzahlen statt. Da es sehr viel mehr PMR-Patienten gibt, war es möglich, eine große Zahl unbehandelter Fälle (n=27) einzuschließen, während bei den RZA-Patienten nur 19 der insgesamt 41 Patienten vorher keine Therapie erhalten hatten. Andererseits ist in der Patientengruppe der PMR-Patienten aufgrund der Einschlusskriterien basierend auf den Bird-Kriterien mit einer Spezifität von nur 80 % auszugehen, sodass von fehldiagnostizierten Patienten ausgegangen werden muss. Diese Tatsache könnte einen gewissen Bias verursacht haben. Allerdings zeigte der Vergleich zwischen therapierten und untherapierten Patienten, dass eine kurze Therapiedauer kaum Auswirkungen auf die IgG4-Serumkonzentration hat. Zudem wurden bei der Gegenüberstellung der verschiedenen Patientenkohorten stets differenzierte Vergleiche der Untherapierten angestellt

und die über IgG4 hinausgehenden Parameter (eosinophile Granulozyten, ECP, IL-4/-5/-10) nur in der Untergruppe der untherapierten Patienten ermittelt. Der Nutzen der IgG4-Messung in der Praxis zur Differentialdiagnose der RZA von der PMR bzw. der CP, der in unseren Untersuchungen retrospektiv bewertet wurde, sollte in prospektiven Studien bestätigt werden.

Kritisch zu bewerten ist zudem, dass es bislang noch keinen endgültig validierten Cut-off-Wert für die IgG4-Konzentration gibt. Wir haben in unseren Versuchen einen Cut-off-Wert von 1400 µg/ml genutzt, da der verwendete In-House-ELISA auf diesen Wert kalibriert wurde. Die meisten Werte, die in verschiedenen Studien bewertet worden sind, beziehen sich auf die Differenzierung zwischender AIP und einem Pankreaskarzinom statt auf andere (z.B. rheumatische) Erkrankungen. Diese Werte reichen von 1300 µg IgG4/ml (Aparisi et al., 2005), über 1350 µg IgG4/ml (Otsuki et al., 2008) bis zu 1400 µg IgG4/ml (Chari et al., 2006, 2009). Eine Studie, die 418 Patienten mit IgG4-RD, rheumatischen und anderen Erkrankungen einschloss, kam zu dem Ergebnis, dass der optimale Cut-off für die IgG4-Serumkonzentration bei 1440 µg/ml liegt mit einer Sensitivität von 95,10 % und einer Spezifität von 90,76 % (Yamamoto et al., 2012). Auf der Grundlage der Analyse von klinischen Symptomen, Labor- und Biopsieergebnissen bei IgG4-RD-Patienten wurden Diagnosekriterien erarbeitet, die neben dem histologischen Bild einen Cut-off von 1350 µg IgG4/ml verwenden. Obwohl diese Kriterien nicht für alle IgG4-assoziierten Erkrankungen sensitiv sind, scheint der Cut-off von 1350 µg IgG4/ml ein gutes diagnostisches Instrument in Zusammenschau mit dem klinischen Bild zu sein (Umehara et al., 2012).

Die Bewertung der IgG4-Assoziation fand in unserer Arbeit alleine auf der Grundlage der IgG4-Serumkonzentration statt. Ebenso wichtig für die Beurteilung sind allerdings die Betrachtung des histologischen Musters, die Suche nach IgG4-positiven B-Lymphozyten im Gewebe und die klinische Untersuchung (Zen and Nakanuma, 2010). Diese Tatsache kann in unserem Fall allerdings vernachlässigt werden, da es explizit um die Erprobung der IgG4-Serumkonzentration als differentialdiagnostischer serologischer Parameter ging. In prospektiven Folgestudien sollten allerdings diese Kriterien zur umfassenden Aufklärung der IgG4-Assoziation bei RZA/PMR sowie des Auftretens RZA-typischer Läsionen im Rahmen der IgG4-RD einbezogen werden. Auch die Zytokine sollten in Folgestudien noch differenzierter betrachtet werden. So kann die serologische Messung nach einer Stimulation sowie ihre Bestimmung im Gewebe weitere wichtige Hinweise liefern (Alvarez-Rodríguez et al., 2010).

5. Zusammenfassung

Fragestellung

Bildgebend und seitens der klinischen Symptomatik weisen die Riesenzellarteriitis und die Periaortitis teilweise Überschneidung auf, was in Einzelfällen die Differenzierung erschwert. Für die Periaortitis ist eine Assoziation mit Immunglobulin G4 bewiesen. Aufgrund der Ähnlichkeit der beiden Krankheitsbilder stellte sich die Frage, ob auch die Riesenzellarteriitis in einigen Fällen Immunglobulin G4-assoziiert sein könnte und inwieweit die Immunglobulin G4-Serumkonzentration als Marker zur Unterscheidung dieser beiden Krankheitsbilder geeignet ist. Darüber hinaus existiert bislang kein Biomarker, der die Riesenzellarteriitis von der Polymyalgia rheumatica trennen kann. Es sollte untersucht werden, ob das Immunglobulin G4 hierfür infrage kommt.

Methoden

Es wurden experimentell mittels eines In-House-Enzyme Linked Immunosorbent Assay Serumproben von Patienten mit Riesenzellarteriitis (n=41) und Polymyalgia rheumatica (n=27) auf ihren Immunglobulin G4-Spiegel untersucht.

In der Untergruppe der unbehandelten Patienten (Riesenzellarteriitis n=19, Polymyalgia rheumatica n=27) wurden weitere immunologische Marker (Interleukin-4, Interleukin-5, Interleukin-10, Eosinophil Cationic Protein) bestimmt und zusätzliche Parameter (z.B. eosinophile Granulozyten, C-reaktives Protein, Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit, Ferritin) retrospektiv erhoben.

Ergebnisse

Bei Patienten mit Riesenzellarteriitis lag die mittlere Immunglobulin G4-Serumkonzentration im Bereich gesunder Kontrollen. Signifikant mehr Polymyalgia rheumatica- als Riesenzellarteriitis-Patienten wiesen Immunglobulin G4-Werte über dem Cut-off-Wert von 1400 µg/ml auf [(Polymyalgia rheumatica untherapiert: 12 von 27; 44,44 % vs. Riesenzellarteriitis therapiert und untherapiert: 3 von 41; 7,32 %) ($p=0,0006$)] [(Polymyalgia rheumatica untherapiert: 12 von 27; 44,44 % vs. Riesenzellarteriitis untherapiert: 2 von 19; 10,53 %) ($p=0,0218$)]. Bei Polymyalgia rheumatica-Patienten mit zusätzlicher Riesenzellarteriitis (n=13; $581,3 \pm 311,4$ µg/ml) konnten deutlich niedrigere mittlere Immunglobulin G4-Serumkonzentrationen als bei reinen Polymyalgia rheumatica-Patienten ohne Riesenzellarteriitis (n=27; 1300 ± 1076 µg/ml) ermittelt werden ($p=0,0496$).

Auch zeigten signifikant mehr reine Polymyalgia rheumatica-Patienten (12 von 27; 44,44 %) als Patienten mit zusätzlicher Riesenzellarteriitis (1 von 13; 7,69 %) Immunglobulin G4-Konzentrationen über dem Cut-off von 1400 µg/ml ($p=0,0302$). In Übereinstimmung hiermit ergab die Analyse der weiteren Parameter der unbehandelten Patienten eine signifikant höhere Anzahl an eosinophilen Granulozyten (absolut) bei Patienten mit Polymyalgia rheumatica im Vergleich zu denen mit Riesenzellarteriitis [(Polymyalgia rheumatica, $n=26$: $160,1 \pm 93,3/\mu\text{l}$; Riesenzellarteriitis, $n=19$: $75,1 \pm 75,2/\mu\text{l}$) ($p=0,0017$)]. Auch die Eosinophil Cationic Protein-Messung zeigte signifikant höhere Werte bei den Polymyalgia rheumatica-Patienten [(Polymyalgia rheumatica, $n=24$: $29,8 \pm 20,7 \mu\text{g/l}$; Riesenzellarteriitis, $n=16$: $15,6 \pm 12,1 \mu\text{g/l}$) ($p=0,0125$)]. Die Messung der Interleukine ergab bei den Polymyalgia rheumatica-Patienten im Vergleich zu den Riesenzellarteriitis-Patienten signifikant höhere Interleukin-4- und Interleukin-10-Konzentrationen (Interleukin-4 bei Polymyalgia rheumatica, $n=26$: $0,32 \pm 0,39 \text{ pg/ml}$; Interleukin-4 bei Riesenzellarteriitis, $n=18$: $0,07 \pm 0,13 \text{ pg/ml}$; $p=0,0130$); (Interleukin 10 bei Polymyalgia rheumatica, $n=26$: $0,80 \pm 1,15 \text{ pg/ml}$; Interleukin-10 bei Riesenzellarteriitis, $n=19$: $0,23 \pm 0,52 \text{ pg/ml}$; $p=0,0333$).

Schlussfolgerung

Die Ergebnisse lassen vermuten, dass Immunglobulin G4-produzierende Plasmazellen bei der Riesenzellarteriitis, anders als bei manchen Formen der Periaortitis, keine wesentliche Rolle spielen. Erhöhte Immunglobulin G4-Werte bei der Polymyalgia rheumatica in Verbindung mit einer eosinophilen Reaktion könnten ggf. bei der Differentialdiagnose zur Riesenzellarteriitis von Nutzen sein und deuten darauf hin, dass beiden Erkrankungen neben einer gemeinsamen Basis auch unterschiedliche Pathomechanismen zugrunde liegen. Längsschnittstudien sollten erfolgen.

6. Literaturverzeichnis

- Aiello, P.D., Trautmann, J.C., McPhee, T.J., Kunselman, A.R., Hunder, G.G., 1993. Visual prognosis in giant cell arteritis. *Ophthalmology* 100, 550–555.
- Akdis, C.A., Blesken, T., Akdis, M., Wüthrich, B., Blaser, K., 1998. Role of interleukin 10 in specific immunotherapy. *J. Clin. Invest.* 102, 98–106.
- Alvarez-Rodríguez, L., Lopez-Hoyos, M., Mata, C., Marin, M.J., Calvo-Alen, J., Blanco, R., Aurrecochea, E., Ruiz-Soto, M., Martínez-Taboada, V.M., 2010. Circulating cytokines in active polymyalgia rheumatica. *Ann. Rheum. Dis.* 69, 263–269.
- Aparisi, L., Farre, A., Gomez-Cambronero, L., Martinez, J., De Las Heras, G., Corts, J., Navarro, S., Mora, J., Lopez-Hoyos, M., Sabater, L., Ferrandez, A., Bautista, D., Perez-Mateo, M., Mery, S., Sastre, J., 2005. Antibodies to carbonic anhydrase and IgG4 levels in idiopathic chronic pancreatitis: relevance for diagnosis of autoimmune pancreatitis. *Gut* 54, 703–709.
- Arend, W.P., Michel, B.A., Bloch, D.A., Hunder, G.G., Calabrese, L.H., Edworthy, S.M., Fauci, A.S., Leavitt, R.Y., Lie, J.T., Lightfoot, R.W., 1990. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Takayasu arteritis. *Arthritis Rheum.* 33, 1129–1134.
- Assie, C., Janvresse, A., Plissonnier, D., Levesque, H., Marie, I., 2011. Long-term follow-up of upper and lower extremity vasculitis related to giant cell arteritis: a series of 36 patients. *Medicine (Baltimore)* 90, 40–51.
- Baerlecken, N.T., Linnemann, A., Gross, W.L., Moosig, F., Vazquez-Rodriguez, T.R., Gonzalez-Gay, M.A., Martin, J., Kötter, I., Henes, J.C., Melchers, I., Vaith, P., Schmidt, R.E., Witte, T., 2012. Association of ferritin autoantibodies with giant cell arteritis/polymyalgia rheumatica. *Ann. Rheum. Dis.* 71, 943–947.
- Barber, H.S., 1957. Myalgic syndrome with constitutional effects; polymyalgia rheumatica. *Ann. Rheum. Dis.* 16, 230–237.
- Bengtsson, B.A., Malmvall, B.E., 1981. The epidemiology of giant cell arteritis including temporal arteritis and polymyalgia rheumatica. Incidences of different clinical presentations and eye complications. *Arthritis Rheum.* 24, 899–904.
- Bird, H.A., Esselinckx, W., Dixon, A.S., Mowat, A.G., Wood, P.H., 1979. An evaluation of criteria for polymyalgia rheumatica. *Ann. Rheum. Dis.* 38, 434–439.
- Blockmans, D., 2003. The use of (18F)fluoro-deoxyglucose positron emission tomography in the assessment of large vessel vasculitis. *Clin. Exp. Rheumatol.* 21, S15–22.

- Blockmans, D., De Ceuninck, L., Vanderschueren, S., Knockaert, D., Mortelmans, L., Bobbaers, H., 2007. Repetitive 18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in isolated polymyalgia rheumatica: a prospective study in 35 patients. *Rheumatol. Oxf. Engl.* 46, 672–677.
- Boesen, P., Sørensen, S.F., 1987. Giant cell arteritis, temporal arteritis, and polymyalgia rheumatica in a Danish county. A prospective investigation, 1982-1985. *Arthritis Rheum.* 30, 294–299.
- Boiardi, L., Casali, B., Farnetti, E., Pipitone, N., Nicoli, D., Macchioni, P., Cimino, L., Bajocchi, G., Catanoso, M.G., Pattacini, L., Salvarani, C., 2006. Interleukin-10 promoter polymorphisms in giant cell arteritis. *Arthritis Rheum.* 54, 4011–4017.
- Borchers, A.T., Gershwin, M.E., 2012. Giant cell arteritis: a review of classification, pathophysiology, geoepidemiology and treatment. *Autoimmun. Rev.* 11, A544–554.
- Brack, A., Martinez-Taboada, V., Stanson, A., Goronzy, J.J., Weyand, C.M., 1999. Disease pattern in cranial and large-vessel giant cell arteritis. *Arthritis Rheum.* 42, 311–317.
- Breuer, G.S., Nesher, G., Nesher, R., 2009. Rate of discordant findings in bilateral temporal artery biopsy to diagnose giant cell arteritis. *J. Rheumatol.* 36, 794–796.
- Brito-Zerón, P., Ramos-Casals, M., Bosch, X., Stone, J.H., 2014. The clinical spectrum of IgG4-related disease. *Autoimmun. Rev.*
- Calamia, K.T., Hunder, G.G., 1981. Giant cell arteritis (temporal arteritis) presenting as fever of undetermined origin. *Arthritis Rheum.* 24, 1414–1418.
- Cantini, F., Niccoli, L., Storri, L., Nannini, C., Olivieri, I., Padula, A., Boiardi, L., Salvarani, C., 2004. Are polymyalgia rheumatica and giant cell arteritis the same disease? *Semin. Arthritis Rheum.* 33, 294–301.
- Cavazza, A., Muratore, F., Boiardi, L., Restuccia, G., Pipitone, N., Pazzola, G., Tagliavini, E., Ragazzi, M., Rossi, G., Salvarani, C., 2014. Inflamed temporal artery: histologic findings in 354 biopsies, with clinical correlations. *Am. J. Surg. Pathol.* 38, 1360–1370.
- Chari, S.T., Smyrk, T.C., Levy, M.J., Topazian, M.D., Takahashi, N., Zhang, L., Clain, J.E., Pearson, R.K., Petersen, B.T., Vege, S.S., Farnell, M.B., 2006. Diagnosis of autoimmune pancreatitis: the Mayo Clinic experience. *Clin. Gastroenterol. Hepatol. Off. Clin. Pract. J. Am. Gastroenterol. Assoc.* 4, 1010–1016; quiz 934.
- Chari, S.T., Takahashi, N., Levy, M.J., Smyrk, T.C., Clain, J.E., Pearson, R.K., Petersen, B.T., Topazian, M.A., Vege, S.S., 2009. A diagnostic strategy to distinguish autoimmune

- pancreatitis from pancreatic cancer. *Clin. Gastroenterol. Hepatol. Off. Clin. Pract. J. Am. Gastroenterol. Assoc.* 7, 1097–1103.
- Cheuk, W., Chan, J.K.C., 2010. IgG4-related sclerosing disease: a critical appraisal of an evolving clinicopathologic entity. *Adv. Anat. Pathol.* 17, 303–332.
- Chuang, T.Y., Hunder, G.G., Ilstrup, D.M., Kurland, L.T., 1982. Polymyalgia rheumatica: a 10-year epidemiologic and clinical study. *Ann. Intern. Med.* 97, 672–680.
- Ciccia, F., Alessandro, R., Rizzo, A., Principe, S., Raiata, F., Cavazza, A., Guggino, G., Accardo-Palumbo, A., Boiardi, L., Ferrante, A., Principato, A., Giardina, A., De Leo, G., Salvarani, C., Triolo, G., 2011. Expression of interleukin-32 in the inflamed arteries of patients with giant cell arteritis. *Arthritis Rheum.* 63, 2097–2104.
- Cid, M.C., Font, C., Coll-Vinent, B., Grau, J.M., 1998. Large vessel vasculitides. *Curr. Opin. Rheumatol.* 10, 18–28.
- Dasgupta, B., Borg, F.A., Hassan, N., Alexander, L., Barraclough, K., Bourke, B., Fulcher, J., Hollywood, J., Hutchings, A., James, P., Kyle, V., Nott, J., Power, M., Samanta, A., BSR and BHPR Standards, Guidelines and Audit Working Group, 2010a. BSR and BHPR guidelines for the management of giant cell arteritis. *Rheumatol. Oxf. Engl.* 49, 1594–1597.
- Dasgupta, B., Borg, F.A., Hassan, N., Barraclough, K., Bourke, B., Fulcher, J., Hollywood, J., Hutchings, A., Kyle, V., Nott, J., Power, M., Samanta, A., BSR and BHPR Standards, Guidelines and Audit Working Group, 2010b. BSR and BHPR guidelines for the management of polymyalgia rheumatica. *Rheumatol. Oxf. Engl.* 49, 186–190.
- Dasgupta, B., Cimmino, M.A., Maradit-Kremers, H., Schmidt, W.A., Schirmer, M., Salvarani, C., Bachta, A., Dejaco, C., Duftner, C., Jensen, H.S., Duhaut, P., Poór, G., Kaposi, N.P., Mandl, P., Balint, P.V., Schmidt, Z., Iagnocco, A., Nannini, C., Cantini, F., Macchioni, P., Pipitone, N., Amo, M.D., Espígol-Frigolé, G., Cid, M.C., Martínez-Taboada, V.M., Nordborg, E., Direskeneli, H., Aydin, S.Z., Ahmed, K., Hazleman, B., Silverman, B., Pease, C., Wakefield, R.J., Luqmani, R., Abril, A., Michet, C.J., Marcus, R., Gonter, N.J., Maz, M., Carter, R.E., Crowson, C.S., Matteson, E.L., 2012. 2012 provisional classification criteria for polymyalgia rheumatica: a European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology collaborative initiative. *Ann. Rheum. Dis.* 71, 484–492.
- Dasgupta, B., Panayi, G.S., 1990. Interleukin-6 in serum of patients with polymyalgia rheumatica and giant cell arteritis. *Br. J. Rheumatol.* 29, 456–458.
- Deheragoda, M.G., Church, N.I., Rodriguez-Justo, M., Munson, P., Sandanayake, N., Seward, E.W., Miller, K., Novelli, M., Hatfield, A.R.W., Pereira, S.P., Webster, G.J.M., 2007. The use

- of immunoglobulin g4 immunostaining in diagnosing pancreatic and extrapancreatic involvement in autoimmune pancreatitis. *Clin. Gastroenterol. Hepatol. Off. Clin. Pract. J. Am. Gastroenterol. Assoc.* 5, 1229–1234.
- Deng, J., Younge, B.R., Olshen, R.A., Goronzy, J.J., Weyand, C.M., 2010. Th17 and Th1 T-cell responses in giant cell arteritis. *Circulation* 121, 906–915.
- Deshpande, V., Zen, Y., Chan, J.K., Yi, E.E., Sato, Y., Yoshino, T., Klöppel, G., Heathcote, J.G., Khosroshahi, A., Ferry, J.A., Aalberse, R.C., Bloch, D.B., Brugge, W.R., Bateman, A.C., Carruthers, M.N., Chari, S.T., Cheuk, W., Cornell, L.D., Fernandez-Del Castillo, C., Forcione, D.G., Hamilos, D.L., Kamisawa, T., Kasashima, S., Kawa, S., Kawano, M., Lauwers, G.Y., Masaki, Y., Nakanuma, Y., Notohara, K., Okazaki, K., Ryu, J.K., Saeki, T., Sahani, D.V., Smyrk, T.C., Stone, J.R., Takahira, M., Webster, G.J., Yamamoto, M., Zamboni, G., Umehara, H., Stone, J.H., 2012. Consensus statement on the pathology of IgG4-related disease. *Mod. Pathol.* 25, 1181–1192.
- Ebbo, M., Grados, A., Bernit, E., Vely, F., Boucraut, J., Harle, J.-R., Daniel, L., Schleinitz, N., 2012. Pathologies Associated with Serum IgG4 Elevation. *Int. J. Rheumatol.* 2012.
- Evans, J.M., Hunder, G.G., 2000. Polymyalgia rheumatica and giant cell arteritis. *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 26, 493–515.
- Evans, J., Steel, L., Borg, F., Dasgupta, B., 2016. Long-term efficacy and safety of tocilizumab in giant cell arteritis and large vessel vasculitis. *RMD Open* 2, e000137.
- Falsetti, P., Acciai, C., Volpe, A., Lenzi, L., 2011. Ultrasonography in early assessment of elderly patients with polymyalgic symptoms: a role in predicting diagnostic outcome? *Scand. J. Rheumatol.* 40, 57–63.
- Franzén, P., Sutinen, S., von Knorring, J., 1992. Giant cell arteritis and polymyalgia rheumatica in a region of Finland: an epidemiologic, clinical and pathologic study, 1984-1988. *J. Rheumatol.* 19, 273–276.
- Fry, A.C., Singh, S., Gunda, S.S., Boustead, G.B., Hanbury, D.C., McNicholas, T.A., Farrington, K., 2008. Successful use of steroids and ureteric stents in 24 patients with idiopathic retroperitoneal fibrosis: a retrospective study. *Nephron Clin. Pract.* 108, c213–220.
- García-Martínez, A., Hernández-Rodríguez, J., Arguis, P., Paredes, P., Segarra, M., Lozano, E., Nicolau, C., Ramírez, J., Lomeña, F., Josa, M., Pons, F., Cid, M.C., 2008. Development of aortic aneurysm/dilatation during the followup of patients with giant cell arteritis: a cross-sectional screening of fifty-four prospectively followed patients. *Arthritis Rheum.* 59, 422–430.

- Gilmour, J.R., 1941. Giant-cell chronic arteritis. *J. Pathol. Bacteriol.* 53, 263–277.
- Gonzalez-Gay, M.A., 2004. Giant cell arteritis and polymyalgia rheumatica: two different but often overlapping conditions. *Semin. Arthritis Rheum.* 33, 289–293.
- González-Gay, M.A., Blanco, R., Rodríguez-Valverde, V., Martínez-Taboada, V.M., Delgado-Rodriguez, M., Figueroa, M., Uriarte, E., 1998. Permanent visual loss and cerebrovascular accidents in giant cell arteritis: predictors and response to treatment. *Arthritis Rheum.* 41, 1497–1504.
- González-Gay, M.A., Blanco, R., Sánchez-Andrade, A., Vázquez-Caruncho, M., 1997. Giant cell arteritis in Lugo, Spain: a more frequent disease with fewer classic features. *J. Rheumatol.* 24, 2166–2170.
- González-Gay, M.A., García-Porrúa, C., 2001. Epidemiology of the vasculitides. *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 27, 729–749.
- Gonzalez-Gay, M.A., Garcia-Porrúa, C., Amor-Dorado, J.C., Llorca, J., 2004. Giant cell arteritis without clinically evident vascular involvement in a defined population. *Arthritis Rheum.* 51, 274–277.
- Gonzalez-Gay, M.A., Vazquez-Rodriguez, T.R., Lopez-Diaz, M.J., Miranda-Fillooy, J.A., Gonzalez-Juanatey, C., Martin, J., Llorca, J., 2009. Epidemiology of giant cell arteritis and polymyalgia rheumatica. *Arthritis Rheum.* 61, 1454–1461.
- Große, K., Schmidt, R.E., Witte, T., Baerlecken, N.T., 2013. Epitope mapping of antibodies against ferritin heavy chain in giant cell arteritis and polymyalgia rheumatica. *Scand. J. Rheumatol.* 42, 215–219.
- Grütz, G., 2005. New insights into the molecular mechanism of interleukin-10-mediated immunosuppression. *J. Leukoc. Biol.* 77, 3–15.
- Hamano, H., Kawa, S., Horiuchi, A., Unno, H., Furuya, N., Akamatsu, T., Fukushima, M., Nikaido, T., Nakayama, K., Usuda, N., Kiyosawa, K., 2001. High serum IgG4 concentrations in patients with sclerosing pancreatitis. *N. Engl. J. Med.* 344, 732–738.
- Hamano, H., Kawa, S., Ochi, Y., Unno, H., Shiba, N., Wajiki, M., Nakazawa, K., Shimojo, H., Kiyosawa, K., 2002. Hydronephrosis associated with retroperitoneal fibrosis and sclerosing pancreatitis. *Lancet* 359, 1403–1404.
- Hamrin, B., Jonsson, N., Landberg, T., 1964. ARTERITIS IN “POLYMYALGIA RHEUMATICA.” *Lancet* 1, 397–401.
- Hayreh, S.S., Podhajsky, P.A., Raman, R., Zimmerman, B., 1997. Giant cell arteritis: validity and reliability of various diagnostic criteria. *Am. J. Ophthalmol.* 123, 285–296.

- Healey, L.A., 1984. Long-term follow-up of polymyalgia rheumatica: evidence for synovitis. *Semin. Arthritis Rheum.* 13, 322–328.
- Hernández-Rodríguez, J., Segarra, M., Vilardell, C., Sánchez, M., García-Martínez, A., Esteban, M.-J., Grau, J.M., Urbano-Márquez, A., Colomer, D., Kleinman, H.K., Cid, M.C., 2003. Elevated production of interleukin-6 is associated with a lower incidence of disease-related ischemic events in patients with giant-cell arteritis: angiogenic activity of interleukin-6 as a potential protective mechanism. *Circulation* 107, 2428–2434.
- Hernández-Rodríguez, J., Segarra, M., Vilardell, C., Sánchez, M., García-Martínez, A., Esteban, M.J., Queralt, C., Grau, J.M., Urbano-Márquez, A., Palacín, A., Colomer, D., Cid, M.C., 2004. Tissue production of pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , TNF α and IL-6) correlates with the intensity of the systemic inflammatory response and with corticosteroid requirements in giant-cell arteritis. *Rheumatol. Oxf. Engl.* 43, 294–301.
- Horton, B.T., Magath, T.B., Brown, G.E., 1932. An undescribed form of arteritis of the temporal vessels. *Mayo Clin. Proc.* 7, 700–701.
- Hunder, G.G., Bloch, D.A., Michel, B.A., Stevens, M.B., Arend, W.P., Calabrese, L.H., Edworthy, S.M., Fauci, A.S., Leavitt, R.Y., Lie, J.T., 1990. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of giant cell arteritis. *Arthritis Rheum.* 33, 1122–1128.
- Huston, K.A., Hunder, G.G., Lie, J.T., Kennedy, R.H., Elveback, L.R., 1978. Temporal arteritis: a 25-year epidemiologic, clinical, and pathologic study. *Ann. Intern. Med.* 88, 162–167.
- Hutchinson, J., 1890. Diseases of the arteries. no. I.—on a peculiar form of thrombotic arteritis of the aged which is sometimes productive of gangrene. *Arch. Surg.* 1, 323–329.
- Jeannin, P., Lecoanet, S., Delneste, Y., Gauchat, J.F., Bonnefoy, J.Y., 1998. IgE versus IgG4 production can be differentially regulated by IL-10. *J. Immunol. Baltim. Md* 150, 3555–3561.
- Jennings, G.H., 1938. Arteritis of the temporal vessels. *Lancet* 1, 424–428.
- Kaiser, M., Younge, B., Björnsson, J., Goronzy, J.J., Weyand, C.M., 1999. Formation of new vasa vasorum in vasculitis. Production of angiogenic cytokines by multinucleated giant cells. *Am. J. Pathol.* 155, 765–774.
- Kamisawa, T., Anjiki, H., Egawa, N., Kubota, N., 2009. Allergic manifestations in autoimmune pancreatitis. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 21, 1136–1139.
- Kamisawa, T., Funata, N., Hayashi, Y., Eishi, Y., Koike, M., Tsuruta, K., Okamoto, A., Egawa, N., Nakajima, H., 2003. A new clinicopathological entity of IgG4-related autoimmune disease. *J. Gastroenterol.* 38, 982–984.

- Kamisawa, T., Funata, N., Hayashi, Y., Tsuruta, K., Okamoto, A., Amemiya, K., Egawa, N., Nakajima, H., 2003. Close relationship between autoimmune pancreatitis and multifocal fibrosclerosis. *Gut* 52, 683–687.
- Kamisawa, T., Shimosegawa, T., Okazaki, K., Nishino, T., Watanabe, H., Kanno, A., Okumura, F., Nishikawa, T., Kobayashi, K., Ichiya, T., Takatori, H., Yamakita, K., Kubota, K., Hamano, H., Okamura, K., Hirano, K., Ito, T., Ko, S.B.H., Omata, M., 2009. Standard steroid treatment for autoimmune pancreatitis. *Gut* 58, 1504–1507.
- Kasashima, S., Zen, Y., Kawashima, A., Endo, M., Matsumoto, Y., Kasashima, F., Ohtake, H., Nakanuma, Y., 2010. A clinicopathologic study of immunoglobulin G4-related sclerosing disease of the thoracic aorta. *J. Vasc. Surg.* 52, 1587–1595.
- Kasashima, S., Zen, Y., Kawashima, A., Konishi, K., Sasaki, H., Endo, M., Matsumoto, Y., Kawakami, K., Kasashima, F., Moriya, M., Kimura, K., Ohtake, H., Nakanuma, Y., 2008. Inflammatory abdominal aortic aneurysm: close relationship to IgG4-related periaortitis. *Am. J. Surg. Pathol.* 32, 197–204.
- Kermani, T.A., Matteson, E.L., Hunder, G.G., Warrington, K.J., 2009. Symptomatic lower extremity vasculitis in giant cell arteritis: a case series. *J. Rheumatol.* 36, 2277–2283.
- Kermani, T.A., Schäfer, V.S., Crowson, C.S., Hunder, G.G., Gabriel, S.E., Matteson, E.L., Warrington, K.J., 2010. Increase in age at onset of giant cell arteritis: a population-based study. *Ann. Rheum. Dis.* 69, 780–781.
- Kermani, T.A., Schmidt, J., Crowson, C.S., Ytterberg, S.R., Hunder, G.G., Matteson, E.L., Warrington, K.J., 2012. Utility of erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein for the diagnosis of giant cell arteritis. *Semin. Arthritis Rheum.* 41, 866–871.
- Kermani, T.A., Warrington, K.J., 2013. Polymyalgia rheumatica. *Lancet* 381, 63–72.
- Kermani, T.A., Warrington, K.J., 2014. Advances and challenges in the diagnosis and treatment of polymyalgia rheumatica. *Ther. Adv. Musculoskelet. Dis.* 6, 8–19.
- Kermani, T.A., Warrington, K.J., Crowson, C.S., Ytterberg, S.R., Hunder, G.G., Gabriel, S.E., Matteson, E.L., 2013. Large-vessel involvement in giant cell arteritis: a population-based cohort study of the incidence-trends and prognosis. *Ann. Rheum. Dis.* 72, 1989–1994.
- Khosroshahi, A., Bloch, D.B., Deshpande, V., Stone, J.H., 2010. Rituximab therapy leads to rapid decline of serum IgG4 levels and prompt clinical improvement in IgG4-related systemic disease. *Arthritis Rheum.* 62, 1755–1762.

- Khosroshahi, A., Carruthers, M.N., Stone, J.H., Shinagare, S., Sainani, N., Hasserjian, R.P., Deshpande, V., 2013. Rethinking Ormond's disease: "idiopathic" retroperitoneal fibrosis in the era of IgG4-related disease. *Medicine (Baltimore)* 92, 82–91.
- Kidd, P., 2003. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Altern. Med. Rev. J. Clin. Ther.* 8, 223–246.
- Kiene, M., Csernok, E., Müller, A., Metzler, C., Trabandt, A., Gross, W.L., 2001. Elevated interleukin-4 and interleukin-13 production by T cell lines from patients with Churg-Strauss syndrome. *Arthritis Rheum.* 44, 469–473.
- Klein, R.G., Campbell, R.J., Hunder, G.G., Carney, J.A., 1976. Skip lesions in temporal arteritis. *Mayo Clin. Proc.* 51, 504–510.
- Klein, R.G., Hunder, G.G., Stanson, A.W., Sheps, S.G., 1975. Large artery involvement in giant cell (temporal) arteritis. *Ann. Intern. Med.* 83, 806–812.
- Mahajan, V.S., Mattoo, H., Deshpande, V., Pillai, S.S., Stone, J.H., 2014. IgG4-related disease. *Annu. Rev. Pathol.* 9, 315–347.
- Mahr, A.D., Jover, J.A., Spiera, R.F., Hernández-García, C., Fernández-Gutiérrez, B., LaValley, M.P., Merkel, P.A., 2007. Adjunctive methotrexate for treatment of giant cell arteritis: An individual patient data meta-analysis. *Arthritis Rheum.* 56, 2789–2797.
- Maritati, F., Corradi, D., Versari, A., Casali, M., Urban, M.L., Buzio, C., Vaglio, A., 2012. Rituximab therapy for chronic periaortitis. *Ann. Rheum. Dis.* 71, 1262–1264.
- Martínez-Valle, F., Solans-Laqué, R., Bosch-Gil, J., Vilardell-Tarrés, M., 2010. Aortic involvement in giant cell arteritis. *Autoimmun. Rev.* 9, 521–524.
- Mason, J.C., 2010. Takayasu arteritis—advances in diagnosis and management. *Nat. Rev. Rheumatol.* 6, 406–415.
- Matteson, E.L., Maradit-Kremers, H., Cimmino, M.A., Schmidt, W.A., Schirmer, M., Salvarani, C., Bachta, A., Dejaco, C., Duftner, C., Slott Jensen, H., Poór, G., Kaposi, N.P., Mandl, P., Balint, P.V., Schmidt, Z., Iagnocco, A., Cantini, F., Nannini, C., Macchioni, P., Pipitone, N., Del Amo, M., Espígol-Frigolé, G., Cid, M.C., Martínez-Taboada, V.M., Nordborg, E., Direskeneli, H., Aydin, S.Z., Ahmed, K., Hazelman, B., Pease, C., Wakefield, R.J., Luqmani, R., Abril, A., Marcus, R., Gonter, N.J., Maz, M., Crowson, C.S., Dasgupta, B., 2012. Patient-reported outcomes in polymyalgia rheumatica. *J. Rheumatol.* 39, 795–803.
- Miller, D.V., Isotalo, P.A., Weyand, C.M., Edwards, W.D., Aubry, M.-C., Tazelaar, H.D., 2006. Surgical pathology of noninfectious ascending aortitis: a study of 45 cases with emphasis on an isolated variant. *Am. J. Surg. Pathol.* 30, 1150–1158.

- Mitchinson, M.J., 1970. The pathology of idiopathic retroperitoneal fibrosis. *J. Clin. Pathol.* 23, 681–689.
- Mitchinson, M.J., 1972. Aortic disease in idiopathic retroperitoneal and mediastinal fibrosis. *J. Clin. Pathol.* 25, 287–293.
- Moosig, F., Czech, N., Mehl, C., Henze, E., Zeuner, R.A., Kneba, M., Schröder, J.O., 2004. Correlation between 18-fluorodeoxyglucose accumulation in large vessels and serological markers of inflammation in polymyalgia rheumatica: a quantitative PET study. *Ann. Rheum. Dis.* 63, 870–873.
- Mosmann, T.R., Cherwinski, H., Bond, M.W., Giedlin, M.A., Coffman, R.L., 1986. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 136, 2348–2357.
- Mosmann, T.R., Coffman, R.L., 1989. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu. Rev. Immunol.* 7, 145–173.
- Mukhtyar, C., Guillevin, L., Cid, M.C., Dasgupta, B., de Groot, K., Gross, W., Hauser, T., Hellmich, B., Jayne, D., Kallenberg, C.G.M., Merkel, P.A., Raspe, H., Salvarani, C., Scott, D.G.I., Stegeman, C., Watts, R., Westman, K., Witter, J., Yazici, H., Luqmani, R., European Vasculitis Study Group, 2009. EULAR recommendations for the management of large vessel vasculitis. *Ann. Rheum. Dis.* 68, 318–323.
- Narváez, J., Bernad, B., Roig-Vilaseca, D., García-Gómez, C., Gómez-Vaquero, C., Juanola, X., Rodríguez-Moreno, J., Nolla, J.M., Valverde, J., 2007. Influence of previous corticosteroid therapy on temporal artery biopsy yield in giant cell arteritis. *Semin. Arthritis Rheum.* 37, 13–19.
- Nirula, A., Glaser, S.M., Kalled, S.L., Taylor, F.R., Tylora, F.R., 2011. What is IgG4? A review of the biology of a unique immunoglobulin subtype. *Curr. Opin. Rheumatol.* 23, 119–124.
- Nuenninghoff, D.M., Hunder, G.G., Christianson, T.J.H., McClelland, R.L., Matteson, E.L., 2003a. Mortality of large-artery complication (aortic aneurysm, aortic dissection, and/or large-artery stenosis) in patients with giant cell arteritis: a population-based study over 50 years. *Arthritis Rheum.* 48, 3532–3537.
- Nuenninghoff, D.M., Hunder, G.G., Christianson, T.J.H., McClelland, R.L., Matteson, E.L., 2003b. Incidence and predictors of large-artery complication (aortic aneurysm, aortic dissection, and/or large-artery stenosis) in patients with giant cell arteritis: a population-based study over 50 years. *Arthritis Rheum.* 48, 3522–3531.

- Oseini, A.M., Chaiteerakij, R., Shire, A.M., Ghazale, A., Kaiya, J., Moser, C.D., Aderca, I., Mettler, T.A., Therneau, T.M., Zhang, L., Takahashi, N., Chari, S.T., Roberts, L.R., 2011. Utility of serum immunoglobulin G4 in distinguishing immunoglobulin G4-associated cholangitis from cholangiocarcinoma. *Hepatology*. Baltimore, Md 54, 940–948.
- Otsuki, M., Chung, J.B., Okazaki, K., Kim, M.-H., Kamisawa, T., Kawa, S., Park, S.W., Shimosegawa, T., Lee, K., Ito, T., Nishimori, I., Notohara, K., Naruse, S., Ko, S.B.H., Kihara, Y., Research Committee of Intractable Pancreatic Diseases provided by the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan and the Korean Society of Pancreatobiliary Diseases, 2008. Asian diagnostic criteria for autoimmune pancreatitis: consensus of the Japan-Korea Symposium on Autoimmune Pancreatitis. *J. Gastroenterol.* 43, 403–408.
- Palmisano, A., Vaglio, A., 2009. Chronic periaortitis: a fibro-inflammatory disorder. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* 23, 339–353.
- Papadakis, M.A., Schwartz, N.D., 1986. Temporal arteritis after normalization of erythrocyte sedimentation rate in polymyalgia rheumatica. *Arch. Intern. Med.* 146, 2283–2284.
- Parums, D.V., 1990. The spectrum of chronic periaortitis. *Histopathology* 16, 423–431.
- Paulley, J.W., Hughes, J.P., 1960. Giant-cell arteritis, or arteritis of the aged. *Br. Med. J.* 2, 1562–1567.
- Paul, W.E., 1991. Interleukin-4: a prototypic immunoregulatory lymphokine. *Blood* 77, 1859–1870.
- Pipitone, N., Salvarani, C., 2008. Improving therapeutic options for patients with giant cell arteritis. *Curr. Opin. Rheumatol.* 20, 17–22.
- Protopsaltis, I., Sotiropoulos, A., Foteinos, A., Manoloudaki, K., Boki, K., Linardaki, G., Papazafiropoulou, A., Antonopoulos, S., 2014. Chronic periaortitis (retroperitoneal fibrosis) concurrent with giant cell arteritis: a case report. *J. Med. Case Reports* 8, 167.
- Roche, N.E., Fulbright, J.W., Wagner, A.D., Hunder, G.G., Goronzy, J.J., Weyand, C.M., 1993. Correlation of interleukin-6 production and disease activity in polymyalgia rheumatica and giant cell arteritis. *Arthritis Rheum.* 36, 1286–1294.
- Rojo-Leyva, F., Ratliff, N.B., Cosgrove, D.M., Hoffman, G.S., 2000. Study of 52 patients with idiopathic aortitis from a cohort of 1,204 surgical cases. *Arthritis Rheum.* 43, 901–907.
- Ruta, S., Rosa, J., Navarta, D.A., Saucedo, C., Catoggio, L.J., Monaco, R.G., Soriano, E.R., 2012. Ultrasound assessment of new onset bilateral painful shoulder in patients with polymyalgia rheumatica and rheumatoid arthritis. *Clin. Rheumatol.* 31, 1383–1387.

- Rynes, R.I., Mika, P., Bartholomew, L.E., 1977. Development of giant cell (temporal) arteritis in a patient “adequately” treated for polymyalgia rheumatica. *Ann. Rheum. Dis.* 36, 88–90.
- Sadler, R., Chapman, R.W., Simpson, D., Soonawalla, Z.F., Waldegrave, E.L., Burden, J.M., Misbah, S.A., Ferry, B.L., 2011. The diagnostic significance of serum IgG4 levels in patients with autoimmune pancreatitis: a UK study. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 23, 139–145.
- Sah, R.P., Chari, S.T., 2011. Serologic issues in IgG4-related systemic disease and autoimmune pancreatitis. *Curr. Opin. Rheumatol.* 23, 108–113.
- Salvarani, C., Cantini, F., Boiardi, L., Hunder, G.G., 2002. Polymyalgia rheumatica and giant-cell arteritis. *N. Engl. J. Med.* 347, 261–271.
- Salvarani, C., Cantini, F., Hunder, G.G., 2008. Polymyalgia rheumatica and giant-cell arteritis. *Lancet* 372, 234–245.
- Salvarani, C., Gabriel, S.E., O’Fallon, W.M., Hunder, G.G., 1995a. The incidence of giant cell arteritis in Olmsted County, Minnesota: apparent fluctuations in a cyclic pattern. *Ann. Intern. Med.* 123, 192–194.
- Salvarani, C., Gabriel, S.E., O’Fallon, W.M., Hunder, G.G., 1995b. Epidemiology of polymyalgia rheumatica in Olmsted County, Minnesota, 1970–1991. *Arthritis Rheum.* 38, 369–373.
- Salvarani, C., Hunder, G.G., 2001. Giant cell arteritis with low erythrocyte sedimentation rate: frequency of occurrence in a population-based study. *Arthritis Rheum.* 45, 140–145.
- Salvarani, C., Macchioni, P.L., Tartoni, P.L., Rossi, F., Baricchi, R., Castri, C., Chiaravalloti, F., Portioli, I., 1987. Polymyalgia rheumatica and giant cell arteritis: a 5-year epidemiologic and clinical study in Reggio Emilia, Italy. *Clin. Exp. Rheumatol.* 5, 205–215.
- Salvarani, C., Pipitone, N., Versari, A., Hunder, G.G., 2012. Clinical features of polymyalgia rheumatica and giant cell arteritis. *Nat. Rev. Rheumatol.* 8, 509–521.
- Salvarani, C., Pipitone, N., Versari, A., Vaglio, A., Serafini, D., Bajocchi, G., Salvo, D., Buzio, C., Greco, P., Boiardi, L., 2005. Positron emission tomography (PET): evaluation of chronic periaortitis. *Arthritis Rheum.* 53, 298–303.
- Samson, M., Audia, S., Fraszczak, J., Trad, M., Ornetti, P., Lakomy, D., Ciudad, M., Leguy, V., Berthier, S., Vinit, J., Manckoundia, P., Maillefert, J.-F., Besancenot, J.-F., Aho-Glele, S., Olsson, N.O., Lorcerie, B., Guillevin, L., Mouthon, L., Saas, P., Bateman, A., Martin, L., Janikashvili, N., Larmonier, N., Bonnotte, B., 2012. Th1 and Th17 lymphocytes expressing CD161 are implicated in giant cell arteritis and polymyalgia rheumatica pathogenesis. *Arthritis Rheum.* 64, 3788–3798.

- Schroeder, H.W., Cavacini, L., 2010. Structure and function of immunoglobulins. *J. Allergy Clin. Immunol.* 125, S41–52.
- Schultz, O., Schuchmann, S., Burmester, G.-R., Buttgereit, F., 2003. Case number 26: systemic idiopathic fibrosis associated with aortitis. *Ann. Rheum. Dis.* 62, 486.
- Scola, C.J., Li, C., Upchurch, K.S., 2008. Mesenteric involvement in giant cell arteritis. An underrecognized complication? Analysis of a case series with clinicoanatomic correlation. *Medicine (Baltimore)* 87, 45–51.
- Sedyshev, S.K., Vasil'ev, V.I., Kovrigina, A.M., Logvinenko, O.A., Rodionova, E.B., Safonova, T.N., Gaïduk, I.V., Silin, A.I., Komov, D.V., Nasonov, E.L., 2013. [IgG4-related disease: patient group characterization and rituximab therapy]. *Ter. Arkhiv* 85, 48–53.
- Shimizu, K., Sano, K., 1951. Pulseless disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1, 37–47.
- Singh, V.K., Mehrotra, S., Agarwal, S.S., 1999. The paradigm of Th1 and Th2 cytokines: its relevance to autoimmunity and allergy. *Immunol. Res.* 20, 147–161.
- Stone, J.H., Khosroshahi, A., Deshpande, V., Chan, J.K.C., Heathcote, J.G., Aalberse, R., Azumi, A., Bloch, D.B., Brugge, W.R., Carruthers, M.N., Cheuk, W., Cornell, L., Castillo, C.F.-D., Ferry, J.A., Forcione, D., Klöppel, G., Hamilos, D.L., Kamisawa, T., Kasashima, S., Kawa, S., Kawano, M., Masaki, Y., Notohara, K., Okazaki, K., Ryu, J.K., Saeki, T., Sahani, D., Sato, Y., Smyrk, T., Stone, J.R., Takahira, M., Umehara, H., Webster, G., Yamamoto, M., Yi, E., Yoshino, T., Zamboni, G., Zen, Y., Chari, S., 2012a. Recommendations for the nomenclature of IgG4-related disease and its individual organ system manifestations. *Arthritis Rheum.* 64, 3061–3067.
- Stone, J.H., Khosroshahi, A., Deshpande, V., Stone, J.R., 2010. IgG4-related systemic disease accounts for a significant proportion of thoracic lymphoplasmacytic aortitis cases. *Arthritis Care Res.* 62, 316–322.
- Stone, J.H., Khosroshahi, A., Hilgenberg, A., Spooner, A., Isselbacher, E.M., Stone, J.R., 2009. IgG4-related systemic disease and lymphoplasmacytic aortitis. *Arthritis Rheum.* 60, 3139–3145.
- Stone, J.H., Zen, Y., Deshpande, V., 2012b. IgG4-related disease. *N. Engl. J. Med.* 366, 539–551.
- Stone, J.R., 2011. Aortitis, periaortitis, and retroperitoneal fibrosis, as manifestations of IgG4-related systemic disease. *Curr. Opin. Rheumatol.* 23, 88–94.
- Straub, R.H., Glück, T., Cutolo, M., Georgi, J., Helmke, K., Schölmerich, J., Vaith, P., Lang, B., 2000. The adrenal steroid status in relation to inflammatory cytokines (interleukin-6 and tumour necrosis factor) in polymyalgia rheumatica. *Rheumatol. Oxf. Engl.* 39, 624–631.

- Strehl, J.D., Hartmann, A., Agaimy, A., 2011. Numerous IgG4-positive plasma cells are ubiquitous in diverse localised non-specific chronic inflammatory conditions and need to be distinguished from IgG4-related systemic disorders. *J. Clin. Pathol.* 64, 237–243.
- Sultan, S., Duffy, S., Madhavan, P., Colgan, M.P., Moore, D., Shanik, G., 1999. Fifteen-year experience of transperitoneal management of inflammatory abdominal aortic aneurysms. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. Off. J. Eur. Soc. Vasc. Surg.* 18, 510–514.
- Takayasu, M., 1908. A case of strange anastomosis of the central vessels of the retina. *J. Jpn. Ophthalmol. Soc.* 12, 554.
- Terrier, B., Geri, G., Chaara, W., Allenbach, Y., Rosenzweig, M., Costedoat-Chalumeau, N., Fouret, P., Musset, L., Benveniste, O., Six, A., Klatzmann, D., Saadoun, D., Cacoub, P., 2012. Interleukin-21 modulates Th1 and Th17 responses in giant cell arteritis. *Arthritis Rheum.* 64, 2001–2011.
- Tölle, P.A.R., Kesten, F., Daikeler, T., 2012. Giant cell arteritis followed by idiopathic retroperitoneal fibrosis in the same patient—an unexpected positron emission tomography finding. *Rheumatol. Oxf. Engl.* 51, 1549.
- Umehara, H., Okazaki, K., Masaki, Y., Kawano, M., Yamamoto, M., Saeki, T., Matsui, S., Yoshino, T., Nakamura, S., Kawa, S., Hamano, H., Kamisawa, T., Shimosegawa, T., Shimatsu, A., Nakamura, S., Ito, T., Notohara, K., Sumida, T., Tanaka, Y., Mimori, T., Chiba, T., Mishima, M., Hibi, T., Tsubouchi, H., Inui, K., Ohara, H., 2012. Comprehensive diagnostic criteria for IgG4-related disease (IgG4-RD), 2011. *Mod. Rheumatol. Jpn. Rheum. Assoc.* 22, 21–30.
- Unizony, S.H., Dasgupta, B., Fiskeleva, E., Rowell, L., Schett, G., Spiera, R., Zwerina, J., Harari, O., Stone, J.H., 2013. Design of the tocilizumab in giant cell arteritis trial. *Int. J. Rheumatol.* 2013, 912562.
- Vaglio, A., Buzio, C., 2005. Chronic periaortitis: a spectrum of diseases. *Curr. Opin. Rheumatol.* 17, 34–40.
- Vaglio, A., Corradi, D., Manenti, L., Ferretti, S., Garini, G., Buzio, C., 2003. Evidence of autoimmunity in chronic periaortitis: a prospective study. *Am. J. Med.* 114, 454–462.
- Vaglio, A., Pipitone, N., Salvarani, C., 2011. Chronic periaortitis: a large-vessel vasculitis? *Curr. Opin. Rheumatol.* 23, 1–6.
- Vaglio, A., Salvarani, C., Buzio, C., 2006. Retroperitoneal fibrosis. *Lancet* 367, 241–251.
- Visvanathan, S., Rahman, M.U., Hoffman, G.S., Xu, S., García-Martínez, A., Segarra, M., Lozano, E., Espígol-Frigolé, G., Hernández-Rodríguez, J., Cid, M.C., 2011. Tissue and serum

- markers of inflammation during the follow-up of patients with giant-cell arteritis--a prospective longitudinal study. *Rheumatol. Oxf. Engl.* 50, 2061–2070.
- Wagner, A.D., Goronzy, J.J., Weyand, C.M., 1994. Functional profile of tissue-infiltrating and circulating CD68+ cells in giant cell arteritis. Evidence for two components of the disease. *J. Clin. Invest.* 94, 1134–1140.
- Wenger, M., Calamia, K.T., Salvarani, C., Moncayo, R., Schirmer, M., 2003. Do we need 18F-FDG-positron emission tomography as a functional imaging technique for diagnosing large vessel arteritis? *Clin. Exp. Rheumatol.* 21, S1–2.
- Weyand, C.M., Fulbright, J.W., Hunder, G.G., Evans, J.M., Goronzy, J.J., 2000. Treatment of giant cell arteritis: interleukin-6 as a biologic marker of disease activity. *Arthritis Rheum.* 43, 1041–1048.
- Weyand, C.M., Goronzy, J.J., 2014. Clinical practice. Giant-cell arteritis and polymyalgia rheumatica. *N. Engl. J. Med.* 371, 50–57.
- Weyand, C.M., Hicok, K.C., Hunder, G.G., Goronzy, J.J., 1994. Tissue cytokine patterns in patients with polymyalgia rheumatica and giant cell arteritis. *Ann. Intern. Med.* 121, 484–491.
- Weyand, C.M., Liao, Y.J., Goronzy, J.J., 2012. The immunopathology of giant cell arteritis: diagnostic and therapeutic implications. *J. Neuro-Ophthalmol. Off. J. North Am. Neuro-Ophthalmol. Soc.* 32, 259–265.
- Weyand, C.M., Tetzlaff, N., Björnsson, J., Brack, A., Younge, B., Goronzy, J.J., 1997. Disease patterns and tissue cytokine profiles in giant cell arteritis. *Arthritis Rheum.* 40, 19–26.
- Wieczorek, S., Hellmich, B., Arning, L., Moosig, F., Lamprecht, P., Gross, W.L., Epplen, J.T., 2008. Functionally relevant variations of the interleukin-10 gene associated with antineutrophil cytoplasmic antibody-negative Churg-Strauss syndrome, but not with Wegener's granulomatosis. *Arthritis Rheum.* 58, 1839–1848.
- Wilske, K.R., Healey, L.A., 1967. Polymyalgia rheumatica. A manifestation of systemic giant-cell arteritis. *Ann. Intern. Med.* 66, 77–86.
- Yamamoto, M., Tabeya, T., Naishiro, Y., Yajima, H., Ishigami, K., Shimizu, Y., Obara, M., Suzuki, C., Yamashita, K., Yamamoto, H., Hayashi, T., Sasaki, S., Sugaya, T., Ishida, T., Takano, K.-I., Himi, T., Suzuki, Y., Nishimoto, N., Honda, S., Takahashi, H., Imai, K., Shinomura, Y., 2012. Value of serum IgG4 in the diagnosis of IgG4-related disease and in differentiation from rheumatic diseases and other diseases. *Mod. Rheumatol. Jpn. Rheum. Assoc.* 22, 419–425.

- Zen, Y., Nakanuma, Y., 2010. IgG4-related disease: a cross-sectional study of 114 cases. *Am. J. Surg. Pathol.* 34, 1812–1819.
- Zen, Y., Onodera, M., Inoue, D., Kitao, A., Matsui, O., Nohara, T., Namiki, M., Kasashima, S., Kawashima, A., Matsumoto, Y., Katayanagi, K., Murata, T., Ishizawa, S., Hosaka, N., Kuriki, K., Nakanuma, Y., 2009. Retroperitoneal fibrosis: a clinicopathologic study with respect to immunoglobulin G4. *Am. J. Surg. Pathol.* 33, 1833–1839.

7. Anhänge

7.1. Arbeitsanweisungen, Verdünnungen und Enzyme Linked Immunosorbent Assay-Protokoll

7.1.1. Herstellung von Proben- und Waschpuffer

Probenpuffer:

20 ml Orgentec-Probenpuffer + 80 ml destilliertes Wasser = 100 ml

1 + 4 = 1:5

Waschpuffer:

20 ml Orgentec-Waschpuffer + 980 ml destilliertes Wasser = 1000 ml

1 + 49 = 1:50

7.1.2. Herstellung des Konjugats

Das Konjugat sollte nach Möglichkeit in einem Glasgefäß (am besten einen Tag vor der ersten Verwendung) angesetzt werden.

Bestehen Zweifel bezüglich der Sauberkeit des Gefäßes, empfiehlt es sich, dieses vor Gebrauch mit destilliertem Wasser auszuspülen.

Anfertigen einer Vorverdünnung (1:1000):

1 µl Orgentec-Konjugat + 999 µl Orgentec-Konjugatpuffer

Anfertigen der auf den Platten eingesetzten Verdünnung (1:50.000):

200 µl der 1:1000-Vorverdünnung + 9800 µl Orgentec-Konjugatpuffer

Das fertige Konjugat sollte nicht länger als 1-2 Wochen verwendet werden.

7.1.3. Herstellung der Standardreihe

Die Standards sollten am besten in Glasgefäßen (nach Möglichkeit einen Tag vor der ersten Verwendung) angesetzt werden. Ist dies nicht möglich, können diese auch nach dem Ansetzen umgefüllt werden. Das Pipettierschema finden Sie in Tabelle 16.

Tabelle 16: Pipettierschema zur Herstellung der Standardreihe

ST: Standard; PP: Probenpuffer

ST 6: 0,6 µg/ml:	5,5 µl Human IgG4	+	10 ml PP
ST 5: 0,3 µg/ml:	5 ml von 0,6 µg/ml	+	5 ml PP
ST 4: 0,1 µg/ml:	3 ml von 0,3 µg/ml	+	6 ml PP
ST 3: 0,04 µg/ml:	4 ml von 0,1 µg/ml	+	6 ml PP
ST 2: 0,02 µg/ml:	2,5 ml von 0,04 µg/ml	+	2,5 ml PP
ST 1: 0,00 µg/ml:	/	+	5 ml PP

Die fertigen Standards dürfen maximal 1 Woche verwendet werden.

7.1.4. Verdünnung der Proben und Kontrollseren

Die Verdünnungen sollten immer am Tag der Testung hergestellt werden.

Anfertigen einer Vorverdünnung (1:1.000):

1 µl Serum + 999 µl PP

Anfertigen der auf den Platten eingesetzten Verdünnung (1:25.000):

40 µl der Vorverdünnung + 960 µl PP

7.1.5. Enzyme Linked Immunosorbent Assay-Protokoll

1. Coating (100 µl/well): 1 µg/ml Mouse Anti-Human IgG4 (BD; Material Number 555878; Clone JDC-14)
 - 1.1. Inkubation über Nacht bei Raumtemperatur (22 Stunden; abgedunkelt)
 - 1.2. Abklopfen
2. Blocking (150 µl/well): 5 µg/ml Bovines Serumalbumin (BSA)
 - 2.1. Inkubation für 30 min bei Raumtemperatur
 - 2.2. Abklopfen
 - 2.3. Trocknen für 24 Stunden und anschließend Lagerung im Trockenbeutel bei 4 °C
3. Zugabe der Proben (100 µl/well): 1:25.000 Verdünnung
 - 3.1. Inkubation für 30 min bei Raumtemperatur
 - 3.2. 3 x Waschen mit Waschpuffer

4. Zugabe des Konjugats (100 µl/well): Goat Anti-Human IgG (H+L)/Peroxidase in 1:50.000-Verdünnung
 - 4.1. Inkubation für 15 min bei Raumtemperatur
 - 4.2. 3 x Waschen mit Waschpuffer
5. Zugabe des Substrats (100 µl/well): TMB-Substratlösung
 - 5.1. Inkubation für 15 min bei Raumtemperatur (abgedunkelt)
6. Zugabe der Stopplösung (100 µl/well): 1 molare Salzsäure
7. Photometrische Messung der Absorption bei 450 nm

7.2. Verwendete Materialien, Geräte, Reagenzien und Programme

7.2.1. Geräte

Photometer	MTP Reader incl. Software Magellan; Tecan; Typ Sunrise Remote
Schüttler	IKA Schüttler MTS2
Standautoklav	H+P Labortechnik; Varicoclav 75S
Unicap 100 Analyser	ImmunoCAP ECP; Thermo Fisher Scientific; Phadia Laboratory Systems GmbH
Vortex Genie 2 TM	Bender & Hobein AG Zurich, Switzerland; Manufactured By Scientific Industries, Inc.
Washer	Hydro Flex; Tecan
Zentrifuge	Allegra TM X-12R Centrifuge; Beckmann Coulter

7.2.2. Hilfsmittel und Materialien

Abdeckfolien	Acetate Foil for Microtest Well Plates; Sarstedt
Costar-Platte	Thermo Fisher Scientific
Flüssigkeitsreservoir	Roth
Handschuhe	Powder-Free Nitrile Exam Gloves; Sensi Care Ice

Laborflaschen	100 ml, mit Schraubverschluss-Kappe; Schott
	1000 ml, mit Schraubverschluss-Kappe; Schott
Mehrkanalpipette	Finnpipette F2, 8 Kanäle, 30-300 µl; Thermo Fisher Scientific
Mikrofasertücher	Wepa prestige
Mikro-Schraubröhre	2 ml; Sarstedt
Pipetten	0,5-10 µl; Eppendorf Reference
	10-100 µl; Eppendorf Reference
	100-1000 µl; Eppendorf Reference
Pipettenspitzen	30-300 µl; Thermo Fisher Scientific
	10 µl; Sarstedt
	200 µl; Sarstedt
	1000 µl; Sarstedt
Reaction Tubes	1,5 ml, PP, graduated, attached cap, natural; Greiner bio-one
RIA-Gefäße	Sarstedt
Röhre/Tube	15 ml, 120x17 mm; Sarstedt
	50 ml, 114x28 mm; Sarstedt
Sterilium	Händedesinfektionsmittel, 500 ml; BODE Chemie GmbH
Stoppuhr	Comet
7.2.3. Lagerung	
Gefrierschrank	Liebherr
Kühlkammer	Viesmann

7.2.4. Programme

Acel	Borland International, Inc.
Graph Pad Prism	Prism 5 for Windows, Version 5.0; GraphPad Software
Magellan™	Data Analysis Software; Tecan Typ Sunrise Remote; Tecan Austria GmbH
Mikro Win	Version 5.15; Mikrotek Laborsysteme GmbH
Orbis 21	AGFA Health Care
Se Pavas	Synos; Document & Workflow Management GmbH

7.2.5. Reagenzien

Destilliertes Wasser

7.2.5.1. Immunglobulin G4-Enzyme Linked Immunosorbent Assay

Human IgG4	Myeloma; Calbiochem; Protein Concentration: 1,09 mg/ml; 1 mg; LOT # D00147712
Konjugat	Peroxidase-conjugated Affini Pure Goat Anti-Human IgG (H+L); Jackson Immuno Research Laboratories, Inc.; Antibody Concentration: 0,8 mg/ml; 1,5 ml; LOT 98473
Konjugatpuffer	Enzymkonjugatverdünnungspuffer; Orgentec; 15 ml; LOT ED318
Mikrotiterplatte	Nunc-ELISA-Platte (100 µl/well); Orgentec; 1 µg/ml Mouse Anti-Human IgG4 (BD; Material Number 555878; Clone JDC-14); LOT 318
Probenpuffer	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan (TRIS); Natriumazid (NaN ₃) < 0,1 % (w/w); gelb; Konzentrat (5x); Orgentec; 20 ml; LOT P328
Substrat	3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB-Substratlösung); gebrauchsfertig; Orgentec; 15 ml; LOT 0140911
Stopplösung	1 molare Salzsäure; gebrauchsfertig; Orgentec; 15 ml; LOT 142
Waschpuffer	Blei(II)-sulfid (PBS); Natriumazid (NaN ₃) < 0,1 % (w/w); Konzentrat (50x); Orgentec; 20 ml; LOT W131

7.2.5.2. Eosinophil Cationic Protein-Messung

Entwicklerlösung	ImmunoCAP Development Solution; Phadia; 6 ml gebrauchsfertig; Entwickler-Lösung 0,01 % 4-Methylumbelliferyl- β -D-Galactosid, < 0,0010 % Konservierungsmittel; LOT 939HT
Stopplösung	ImmunoCAP Stop Solution; Phadia; 65 ml gebrauchsfertig; Stopplösung 4 % Natrium-Carbonat; LOT 940GN
Testset	ImmunoCAP ECP; Phadia; LOT FUDR [Set mit Konjugat, Kontrolle, Anti-ECP] Anti-ECP: ImmunoCAP ECP Anti-ECP; LOT 778C9/C73CB Konjugat: ImmunoCAP ECP Conjugate 2,8 ml; LOT 969BS Kontrolle: ImmunoCAP ECP Curve Control 1 0,2 ml; LOT AVVBW
Waschlösung	ImmunoCAP Washing Solution; Phadia Washing Solution Additive 17,2 ml; LOT BF8JE Washing Solution Conc. 80 ml; LOT BF9RC

7.2.5.3. Interleukin-10-Enzyme Linked Immunosorbent Assay

ELISA-Kit	Quantikine HS ELISA R&D Systems Human IL-10; LOT 310576 Amplifier; LOT 301086 Amplifier Diluent; LOT 301087 Anti-Human IL-10 HS Conjugate; LOT 309003 Assay Diluent RD1-10; LOT 308455 Calibrator Diluent RD6-10; LOT 304951 Human IL-10 HS Microplate; LOT 308171 Human IL-10 HS Standard; LOT 306332 Plate Covers, Adhesive strips Stop Solution; LOT 308720 Substrate; LOT 301084 Substrate Diluent; LOT 301085 Wash Buffer 10 x Concentrate; LOT 308462
-----------	---

7.2.5.4. Interleukin-5-Enzyme Linked Immunosorbent Assay

ELISA-Kit	Quantikine ELISA R&D Systems Human IL-5; LOT 314972 Anti-Human IL-5 Conjugate; LOT 308397
-----------	--

Assay Diluent RD1W; LOT 308724
 Calibrator Diluent RD6-11; LOT 308127
 Color Reagent A; LOT 303293
 Color Reagent B; LOT 303294
 Human IL-5 Immunoassay Microplate; LOT 307387
 Human IL-5 Standard; LOT 311512
 Plate Sealers, Adhesive Strips
 Stop Solution; LOT 309655
 Wash Buffer 25 x Concentrate; LOT 310178

7.2.5.5. Interleukin-4-Enzyme Linked Immunosorbent Assay

ELISA-Kit	Quantikine HS ELISA/Immunoassay R&D Systems Human IL-4; LOT 311938
	Amplifier; LOT 307996
	Amplifier Diluent; LOT 307997
	Anti-Human IL-4 HS Conjugate; LOT 311032
	Assay Diluent RD1-6; LOT 309069
	Calibrator Diluent RD6U; LOT 301723
	Human IL-4 HS Immunoassay Microplate; LOT 310149
	Human IL-4 HS Standard; LOT 310150
	Plate Sealers, Adhesive Strips
	Stop Solution; LOT 309655
	Substrate; LOT 307994
	Substrate Diluent; LOT 307995
	Wash Buffer 10 x Concentrate; LOT 308462

7.3. Korrelationen

Die Tabellen 17, 18 und 19 zeigen die p-Werte für die Korrelationen der verschiedenen Parameter untereinander, die sich bei der linearen Regressionsanalyse ergeben haben.

In den folgenden Tabellen zeigen dunkelgrau hinterlegte p-Werte positive Korrelationen an, während hellgrau hinterlegte p-Werte negative Korrelationen markieren.

EOS: Absolute eosinophile Granulozyten; WBC: white blood cells (Leukozyten); Hb: Hämoglobin;
 FERR: Ferritin

Tabelle 17: Lineare Regressionsanalyse bei der RZA (untherapierte Patienten)

	IgG4	EOS	ECP	IL-5	IL-4	IL-10	CRP	BSG	WBC	Hb	FERR
IgG4	-	0,71	0,03	-	0,41	0,49	1,00	0,68	0,29	0,14	0,44
EOS	0,71	-	0,12	-	0,34	0,85	0,52	0,40	0,60	0,26	0,17
ECP	0,03	0,12	-	-	0,18	0,44	0,32	0,39	0,11	0,80	0,61
IL-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IL-4	0,41	0,34	0,18	-	-	0,74	0,52	0,65	0,27	0,71	0,86
IL-10	0,49	0,85	0,44	-	0,74	-	0,87	0,37	0,61	0,53	0,78
CRP	1,00	0,52	0,32	-	0,52	0,87	-	0,50	0,02	0,42	0,73
BSG	0,68	0,40	0,39	-	0,65	0,37	0,50	-	0,19	< 0,00	0,84
WBC	0,29	0,60	0,11	-	0,27	0,61	0,02	0,19	-	0,33	0,67
Hb	0,14	0,26	0,80	-	0,71	0,53	0,42	< 0,00	0,33	-	0,45
FERR	0,44	0,17	0,61	-	0,86	0,78	0,73	0,84	0,67	0,45	-

Tabelle 18: Lineare Regressionsanalyse bei der PMR (untherapierte Patienten)

	IgG4	EOS	ECP	IL-5	IL-4	IL-10	CRP	BSG	WBC	Hb	FERR
IgG4	-	0,19	0,32	-	0,73	0,57	0,48	0,56	0,21	0,17	0,58
EOS	0,19	-	0,24	-	0,66	0,18	0,79	0,66	0,66	0,14	0,60
ECP	0,32	0,24	-	-	0,54	0,17	0,96	0,68	0,07	1,00	0,20
IL-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IL-4	0,73	0,66	0,54	-	-	0,63	0,46	0,39	0,63	0,45	0,89
IL-10	0,57	0,18	0,17	-	0,63	-	0,68	0,84	0,68	0,26	0,52
CRP	0,48	0,79	0,96	-	0,46	0,68	-	0,41	0,15	0,88	0,01
BSG	0,56	0,66	0,68	-	0,39	0,84	0,41	-	0,10	0,00	0,59
WBC	0,21	0,66	0,07	-	0,63	0,68	0,15	0,10	-	0,96	0,75
Hb	0,17	0,14	1,00	-	0,45	0,26	0,88	0,00	0,96	-	0,57
FERR	0,58	0,60	0,20	-	0,89	0,52	0,01	0,59	0,75	0,57	-

Tabelle 19: Lineare Regressionsanalyse bei der gesunden Kontrollgruppe

	IgG4	EOS	ECP	IL-5	IL-4	IL-10	CRP	BSG	WBC	Hb	FERR
IgG4	-	-	-	-	0,29	0,01	-	-	-	-	-
EOS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ECP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IL-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IL-4	0,29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IL-10	0,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CRP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BSG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
WBC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hb	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FERR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Danksagung

Da eine wissenschaftliche Arbeit nie das Werk einer einzelnen Person ist, möchte ich mich an dieser Stelle bei allen Menschen bedanken, die mir die Erstellung meiner Dissertation ermöglicht haben. In erster Linie danke ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Moosig, der mir mit seinem Fachwissen stets beratend zur Seite stand. Mit seiner Geduld und seinen wertvollen Ratschlägen hat er maßgeblich für das Gelingen der Arbeit gesorgt. Ein großer Dank gilt Matthias von Hofen, der mir den Kontakt zu meinem Doktorvater vermittelt hat. Ich danke Dr. Fabian Arndt und Dr. Jan Henrik Schirmer, die mir stets Ansprechpartner waren und mein Projekt durch ihre Ideen, ihre Empfehlungen und ihre konstruktive Kritik bereichert haben. Bedanken möchte ich mich bei Claudia Möck, die meine Arbeit sehr vorangetrieben hat, indem sie mir den Zugang zu vielen wissenschaftlichen Publikationen ermöglicht hat. Ich danke der Firma Orgentec für die kostenlose Bereitstellung der ELISA-Platten und Reagenzien sowie für die große Kooperationsbereitschaft. Mein Dank gilt dem ganzen Laborteam des Klinikum Bad Bramstedts für die freundschaftliche Arbeitsatmosphäre, die vielen Anregungen und die stete Hilfsbereitschaft. Monika Backes möchte ich besonders herzlich dafür danken, dass sie mich mit der Technik der ELISAs vertraut gemacht und mich bei der Durchführung mit ihrem großen Erfahrungsschatz betreut hat. Ohne ihr Organisationstalent und Engagement wäre ein erfolgreicher Abschluss meines Projektes nicht möglich gewesen. Auch Dr. Cornelia Fessler stand mir immer mit Rat und Tat zur Seite. Ich bedanke mich sehr für die warmherzige Unterstützung, die sie mir hat zukommen lassen. Ein besonderes Wort des Dankes möchte ich an meine Familie und meine Freunde richten. Sie haben mir stets Mut zugesprochen und mich bestärkt. Ohne ihren uneingeschränkten, vielseitigen und liebevollen Beistand wäre diese Dissertation nicht möglich gewesen.

Lebenslauf

Angaben zur Person:

Vor- und Zuname:	Mara Burkel
Geburtsdatum:	26.08.1990
Geburtsort:	Kiel
Wohnort:	Langenbeckstraße 6, 24116 Kiel
Staatsangehörigkeit:	Deutsch
Familienstand:	Ledig, keine Kinder

Schulausbildung:

1997-2001	Grundschule Felde
2001-2005	Friedrich-Junge-Realschule Kiel
2005-2010	Gymnasium Kronshagen
2010	Abitur

Studium:

2010	Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
2012	1. Staatsexamen
2015	2. Staatsexamen
2016	3. Staatsexamen und Erhalt der Approbation

Dissertation:

Juli-Oktober 2013	Beginn der experimentellen Laborarbeit
Februar-April 2014	Fortführung und Beendigung der experimentellen Laborarbeit
19.09.2014	Kurzvortrag über die Ergebnisse der Dissertationsarbeit auf dem 42. DGRh-Kongress in Düsseldorf
11.04.2016	Eröffnung des Promotionsverfahrens
02.12.2016	Publikation des Artikels „Serum immunoglobulin G4 in giant cell arteritis and polymyalgia rheumatica“ in der Fachzeitschrift „Clinical and Experimental Rheumatology“
07.06.2017	Mündliche Doktorprüfung